

Steroid-Anker für organische Synthesen an fester Phase

Vom Fachbereich Chemie
der Technischen Universität Darmstadt

zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktor-Ingenieurs
(Dr.-Ing.)

genehmigte
Dissertation

eingereicht von

Dipl.-Ing. Ulrich Matthias Adler
aus Offenbach am Main

Berichterstatter:	Prof. Dr. W.-D. Fessner
Mitberichterstatter:	PD Dr. H. Pasch
Tag der Einreichung:	04.09.2007
Tag der mündlichen Prüfung:	22.10.2007

Darmstadt 2007

An dieser Stelle möchte ich mich ganz herzlich bedanken

bei Herrn Prof. Dr. W.-D. Fessner für die interessante Themenstellung und seine Diskussionsbereitschaft;

bei PD Dr. H. Pasch für seine Tätigkeit als Mitberichterstatter;

bei Frau K. Jungk und Herrn K.-O. Runzheimer für die Aufnahme der NMR-Spektren sowie Herrn Dr. R. Meusinger für seine Unterstützung bei der Strukturaufklärung; bei Frau C. Rudolph und Prof. Dr. J. J. Veith für die Anfertigung der Massenspektren;

bei allen Mitarbeitern des Arbeitskreises, die zur Durchführung dieser Arbeit in einem angenehmen Arbeitsklima beigetragen haben, insbesondere bei Dr. P. Grundmann und Dr. J. Schooren für die Durchsicht des Manuskripts, Dipl.-Ing. O. Ludwik für die Instandhaltung der Infrastruktur des Arbeitskreises sowie Dr. P. Unruh für die Zurverfügungstellung verschiedener Oligosaccharide und Sialinsäuren;

bei C. Gundrum, D. Kiefer, N. Sehafer und M. Tomaszowski für ihre Unterstützung im Rahmen von Vertiefungspraktika;

insbesondere bei meinen Eltern, die mir dieses Studium ermöglichten und mich immer unterstützt haben, und bei meinem Schwiegervater H. Gischas für hilfreiche Korrekturanmerkungen;

sowie bei meiner Ehefrau Martina.

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	VI
----------------------------	----

Verbindungsverzeichnis.....	IX
-----------------------------	----

1. Einleitung.....	1
---------------------------	----------

1.1 Vorwort.....	1
------------------	---

1.2 Synthese und Aufarbeitung.....	1
------------------------------------	---

1.3 Kombinatorische Chemie.....	2
---------------------------------	---

1.4 Festphasensynthesen.....	4
------------------------------	---

1.4.1 Festphasensynthese nach Merrifield.....	4
---	---

1.4.2 Polymerunterstützte Synthese.....	7
---	---

1.5 Fluorphasen.....	8
----------------------	---

1.6 Reversible Festphasensynthese.....	10
--	----

2. Zielsetzung.....	15
----------------------------	-----------

3. Allgemeiner Teil.....	19
---------------------------------	-----------

3.1 Cholesterol.....	19
----------------------	----

3.1.1 Struktur des Cholesterols.....	19
--------------------------------------	----

3.1.2 Synthesestrategie.....	20
------------------------------	----

3.1.3 Hydrierung.....	22
-----------------------	----

3.1.4 Alkylierung der Alkoholgruppe.....	23
--	----

3.1.5 Oxidation.....	29
----------------------	----

3.1.6 C-C-Verknüpfungsreaktionen an 5 γ -Cholestan-3-on (15).....	32
---	----

3.1.7 Zusammenfassung.....	35
----------------------------	----

3.2 Cholsäuren.....	36
---------------------	----

3.2.1 Struktur der Cholsäuren.....	36
------------------------------------	----

3.2.2 Synthesestrategie.....	37
------------------------------	----

3.2.3 Methylierung.....	39
-------------------------	----

3.2.4 Anbindung chromophorer Gruppen.....	43
---	----

3.3 Vergleichende Betrachtung der Synthesesequenzen für hydrophobe Anker.....	44
---	----

3.4 Verschiedene Linker.....	46
------------------------------	----

3.4.1 Alkohol-Linker.....	46
---------------------------	----

3.4.2 Azid-Linker.....	47
------------------------	----

3.4.3 Amin-Linker.....	49
------------------------	----

3.4.4 Isocyanat-Linker.....	51
-----------------------------	----

3.5 Synthese des Acridonankers.....	52
-------------------------------------	----

3.6 Anbindung von Sacchariden.....	53
------------------------------------	----

3.6.1 Anbindung mittels Helferich-Reaktion.....	53
---	----

3.6.2 Anbindung mittels „Click“-Chemie.....	55
---	----

3.6.3	Anbindung mittels Metathese.....	58
3.6.4	Zusammenfassende Betrachtung.....	62
3.7	Synthese von Triazolen über Tandemreaktion.....	63
3.7.1	Einleitung.....	63
3.7.2	Michael-Addition.....	65
3.7.3	„Click“-Reaktion.....	67
3.7.4	Tandemreaktion.....	68
3.8	Vergleich der Anker.....	71
3.8.1	Einleitung.....	71
3.8.2	Einfluss des Lösungsmittels.....	71
3.8.2.1	Methodik.....	71
3.8.2.2	Synthese der Analyten.....	72
3.8.2.3	HPLC-Messungen.....	75
3.8.2.4	Bewertung der Ergebnisse.....	79
3.8.3	Einfluss des Substrates.....	80
3.8.3.1	Methodik.....	80
3.8.3.2	Die Analyten.....	80
3.8.3.3	Oberflächenplasmonresonanz.....	82
3.8.3.4	HPLC-Messungen.....	86
3.8.3.5	Zusammenfassung.....	89
4.	Zusammenfassung und Ausblick.....	91
4.1	Synthese der Anker.....	91
4.2	Tandemreaktionen.....	94
4.3	Vergleich der Anker.....	95
4.4	Ausblick.....	96
5.	Experimenteller Teil.....	99
5.1	Geräte und Reagenzien.....	99
5.1.1	Präparative Arbeiten.....	99
5.1.2	Für Reaktionen eingesetzte spezielle Arbeitsgeräte und -materialien.....	99
5.1.3	Chromatographie.....	100
5.1.3.1	Säulenchromatographie.....	100
5.1.3.2	Dünnschichtchromatographie.....	100
5.1.4	NMR-Spektren.....	100
5.1.5	Massenspektrometrie.....	101
5.2	Vergleich der Anker.....	101
5.2.1	HPLC-Vorversuche.....	101
5.2.2	HPLC-Messungen zum Verteilungsgleichgewicht.....	102
5.2.3	Vergleich mittels Biacore.....	103
5.2.4	Vergleich über HPLC-Retentionszeiten.....	104

5.3 Cholesterol.....	106
5.3.1 5 γ -Cholestan-3 δ -ol (6).....	106
5.3.2 3 δ -(4-Brom-1-butyloxy)-5 γ -cholestan (7).....	107
5.3.3 4-(5 γ -Cholestan-3 δ -yloxy)-buttersäureethylester (9).....	109
5.3.4 3 δ -(4-Cyano-1-propyloxy)-5 γ -cholestan (10).....	109
5.3.5 3 δ -Allyloxy-5 γ -cholestan (11).....	109
5.3.6 3 δ -(3-Hydroxy-1-propyloxy)-5 γ -cholestan (12).....	110
5.3.7 5 γ -Cholestan-3 δ -yloxy-essigsäure (13).....	111
5.3.8 5 γ -Cholestan-3-on (15).....	111
5.3.9 Cholest-4-en-3-on (16).....	112
5.3.10 (5 γ -Cholestan-3-yliden)-malonsäure-dimethylester (17).....	113
5.3.11 (5 γ -Cholestan-3-yliden)-malonsäure-dimethylester (18).....	113
5.3.12 (5 γ -Cholestan-3-yliden)-malonsäure-dinitril (19).....	113
5.3.13 (5 γ -Cholestan-3-yliden)-essigsäure-ethylester (20).....	114
5.3.14 (5 γ -Cholestan-3 δ -yl)-essigsäure-ethylester (21).....	115
5.3.15 2-(5 γ -Cholestan-3 δ -yl)-ethanol (35).....	116
5.3.16 1-(5 γ -Cholestan-3 δ -yl)-2-methansulfonyl-ethan (38).....	117
5.3.17 1-Azido-2-(5 γ -cholestan-3 δ -yl)-ethan (40).....	118
5.3.18 2-(5 γ -Cholestan-3 δ -yl)-ethylamin (42).....	119
5.3.19 [1-(2-(5 γ -Cholestan-3 δ -yl)-ethyl)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-yl]-methanol (54).....	120
5.3.20 [1-(2-(5 γ -Cholestan-3 δ -yl)-ethyl)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-yl]-benzol (55).....	121
5.3.21 {4-[1-(2-(5 γ -Cholestan-3 δ -yl)-ethyl)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-yl]-methoxy- (<i>Z</i>)-2-buten-1-yloxy}-hepta- <i>O</i> -acetyl- δ -D-lactosid (56).....	122
5.3.22 {4-[1-(2-(5 γ -Cholestan-3 δ -yl)-ethyl)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-yl]-methoxy- (<i>Z</i>)-2-buten-1-yloxy}- δ -D-lactosid (59).....	123
5.3.23 <i>N</i> -(2-(5 γ -Cholestan-3 δ -yl)-ethyl)-maleinsäuremonoamid (77).....	124
5.4 Cholsäuren.....	125
5.4.1 Desoxycholsäuremethylester (23).....	125
5.4.2 3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholansäuremethylester (24).....	126
5.4.3 3 γ ,12 γ -Dihydroxy-5 δ -cholan-24-ol (27).....	127
5.4.4 3 γ ,12 γ -Dihydroxy-5 δ -cholan-24-yltritylether (28).....	128
5.4.5 3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-yltritylether (29).....	129
5.4.6 3 γ -Methoxy-5 δ -cholansäuremethylester (30).....	130
5.4.7 3 γ ,7 γ ,12 γ -Trimethoxy-5 δ -cholansäuremethylester (31).....	130
5.4.8 Lithocholsäuremethylester (32).....	131
5.4.9 3 γ -(9 <i>H</i> -Fluoren-2-yl-carbamoyl)-5 δ -cholansäuremethylester (33).....	131
5.4.10 3 γ -(1-Naphthyl-carbamoyl)-5 δ -cholansäuremethylester (34).....	132
5.4.11 3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-ol (36).....	132
5.4.12 3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-ylazid (37).....	133
5.4.13 3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-ylmesylat (39).....	134

5.4.14	3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-ylamin (43).....	134
5.4.15	3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-ylisocyanat (44).....	135
5.4.16	{4-[1-(3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-yl)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-yl]-methoxy-(<i>Z</i>)-2-buten-1-yloxy}-hepta- <i>O</i> -acetyl- δ -D-lactosid (57).....	136
5.4.17	{4-[1-(3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-yl)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-yl]-methoxy-(<i>Z</i>)-2-buten-1-yloxy}- δ -D-lactosid (60).....	137
5.4.18	3 γ ,12 γ -Dimethoxy-24-oxo-5 δ -cholan (75).....	138
5.4.19	<i>N</i> -(3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-yl)-7-aminonaphthalin-1,3-disulfonsäure (76).....	139
5.4.20	<i>N</i> -(3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-yl)-maleinsäuremonoamid (78).....	139
5.4.21	3 γ -Hydroxy-5 δ -cholan-24-ol (80).....	140
5.4.22	3 γ -Methoxy-5 δ -cholan-24-ol (81).....	141
5.4.23	3-Oxocholansäuremethylester (82).....	142
5.4.24	3-Hydroxy-3-(2-propen-1-yl)-cholansäuremethylester (83).....	143
5.4.25	3-(2-Bromethyliden)-cholansäuremethylester (85).....	144
5.4.26	Acetylessigsäure-(3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-yl)-ester (86).....	144
5.4.27	<i>N</i> -(3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-yl)-acetylessigsäureamid (87).....	145
5.5	Acridon.....	145
5.5.1	10-(5-Brom-1-pentyl)-acridin-9(10 <i>H</i>)-on (45).....	145
5.5.2	10-(5-Azido-1-pentyl)-acridin-9(10 <i>H</i>)-on (46).....	147
5.5.3	10-(5-Amino-1-pentyl)-acridin-9(10 <i>H</i>)-on (47).....	148
5.5.4	10-[5-(4-Hydroxy-(<i>Z</i>)-2-buten-1-yloxy)-1-pentyl]-acridin-9(10 <i>H</i>)-on (49).....	148
5.5.5	10-{5-[4-(Hepta- <i>O</i> -acetyl- δ -D-lactosyloxy)-(Z)-2-buten-1-yloxy]-1-pentyl}-acridin-9(10 <i>H</i>)-on (51).....	149
5.5.6	10-{5-[4-((4-(Hepta- <i>O</i> -acetyl- δ -D-lactosyloxy)-(Z)-2-buten-1-yloxy)-methyl)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-yl]-pentyl}-acridin-9-(10 <i>H</i>)-on (58).....	150
5.5.7	10-{5-[4-((4-(δ -D-Lactosyloxy)-(Z)-2-buten-1-yloxy)-methyl)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-yl]-1-pentyl}-acridin-9-(10 <i>H</i>)-on (61).....	151
5.5.8	10-(5-Allyloxy-1-pentyl)-acridin-9(10 <i>H</i>)-on (63).....	152
5.5.9	10-(<i>N</i> -Acryloyl-5-amino-1-pentyl)-acridin-9(10 <i>H</i>)-on (64).....	153
5.5.10	10-{5-[4-(Hepta- <i>O</i> -acetyl- δ -D-lactosyloxy)-(E)-2-buten-1-yloxy]-1-pentyl}-acridin-9(10 <i>H</i>)-on (65).....	154
5.5.11	10-[6-(Hepta- <i>O</i> -acetyl- δ -D-lactosyloxy)-(E)-4-hexen-1-yl]-acridin-9(10 <i>H</i>)-on (67).....	154
5.5.12	10-{ <i>N</i> -[4-(Hepta- <i>O</i> -acetyl- δ -D-lactosyloxy)-(E)-1-oxo-2-buten-1-yl]-5-amino-1-pentyl}-acridin-9(10 <i>H</i>)-on (69).....	154
5.5.13	<i>N</i> -(Acridin-9(10 <i>H</i>)-on-10-yl-1-pentyl)-maleinsäuremonoamid (79).....	156
5.6	Saccharide.....	157
5.6.1	(<i>Z</i>)-4-(2-Propinyloxy)-2-buten-1-ol (52).....	157
5.6.2	4-(2-Propinyloxy)-(Z)-2-buten-1-yl-hepta- <i>O</i> -acetyl- δ -D-lactosid (53).....	157
5.6.3	(<i>E</i>)-4-(Hepta- <i>O</i> -acetyl- δ -D-1-lactosyl)-2-butensäuremethylester (68).....	158

5.7 Tandem-Reaktionen.....	159
5.7.1 Acrylsäurebenzylester (70).....	159
5.7.2 3-Azidopropionsäurebenzylester (72).....	160
5.7.3 3-Azidocyclohexanon (73).....	161
5.7.4 3-(4-Phenyl-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-yl)-cyclohexan-1-on (74).....	162
Literaturverzeichnis.....	165
Abbildungsverzeichnis.....	173
Lebenslauf	
Eidesstattliche Erklärung	

Abkürzungsverzeichnis

4-DMAP	4-Dimethylaminopyridin
9-BBN	9-Bora-bicyclo[3.3.1]nonan
Abb.	Abbildung
abs.	absolut / wasserfrei
Ac	Acetyl
AG	Abgangsgruppe
Asc	Ascorbinsäure, Vitamin C
b	breit (NMR-Spektren)
Boc	<i>tert.</i> -Butyloxycarbonyl
CAN	Ammoniumcer(IV)-nitrat, Cerammoniumnitrat
CH	Cyclohexan
COSY	<i>correlation spectroscopy</i> (NMR-Spektren)
d	Dublett (NMR-Spektren)
ζ	chemische Verschiebung (NMR-Spektren)
DAD	Diodenarraydetektor
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]-undec-7-en
DC	Dünnschichtchromatogramm
DEAD	Diethylazodicarboxylat, Azodicarbonsäurediethylester
DEPT	<i>distortionless enhancement polarisation by transfer</i> (NMR-Spektren)
dest.	destilliert
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EE	Essigester
Et	Ethyl
et al.	<i>et altera</i>
Fmoc	9-Fluorenylmethoxycarbonyl
FT-IR	Fourier-Transformations-Infrarot-Spektroskopie
Glyme	Ethylenglykoldimethylether, 1,2-Dimethoxyethan
HEPES	2-[4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl]-ethansulfonsäure
HMBC	<i>heteronuclear multiple-bond CH correlation</i> (NMR-Spektren)
HSQC	<i>heteronuclear single quantum correlation</i> (NMR-Spektren)
HV	Hochvakuum
i. Vac.	im Vakuum
i-Pr	Isopropyl, 2-Propyl
IR	Infrarot-Spektroskopie

konz.	konzentriert
LAH	Lithiumaluminiumhydrid (LiAlH_4)
Lsg.	Lösung
Lsm.	Lösungsmittel
m	Multiplett (NMR-Spektren)
MAS	<i>magic angle spinning</i>
Me	Methyl
MeCN	Acetonitril
MEK	Methylethylketon, 2-Butanon
MS	Massenspektrometrie
Ms	Mesyl, Methansulfonyl
MSA	Maleinsäureanhydrid
MTBE	Methyl- <i>tert.</i> -butylether
NMR	Kernspinresonanz, <i>nuclear magnetic resonance</i>
NOESY	<i>nuclear Overhauser effect spectroscopy</i> (NMR-Spektren)
org.	organisch
PAK	polycyclischer aromatischer Kohlenwasserstoff
PDC	Pyridiniumdichromat
Pd/C	Palladium auf Aktivkohle
PFT	Perfluortenside
Ph	Phenyl
PMHS	Poly(methylhydridosiloxan)
Pr	Propyl
Py	Pyridin
q	Quartett (NMR-Spektren)
quant.	quantitativ (Ausbeute)
quart.	quartär
quin.	Quintett (NMR-Spektren)
R	organischer Rest
R_f	Rückhaltefaktor
RP	<i>reversed-phase</i> , Umkehrphase
RT	Raumtemperatur
s	Singulett (NMR-Spektren)
s.	siehe
SET	<i>single electron transfer</i>
SPE	<i>solid phase extraction</i> , Festphasenextraktion
SPR	<i>surface plasmon resonance</i> , Oberflächenplasmonresonanz
t	Triplett (NMR-Spektren)
TFA	Trifluoressigsäure

THF	Tetrahydrofuran
TMGA	<i>N,N,N',N'</i> -Tetramethylguanidiniumazid
TMS	Trimethylsilyl
TOC	<i>total organic carbon</i> , gesamter organischer Kohlenstoff
TOCSY	<i>total correlated spectroscopy</i> (NMR-Spektren)
Tr	Trityl, Triphenylmethyl
UV	Ultraviolett
z. B.	zum Beispiel

Verbindungsverzeichnis

- 1 Acridon
- 2 Cholesterol
- 3 Cholsäure
- 4 Desoxycholsäure
- 5 Lithocholsäure
- 6 5 γ -Cholestan-3 δ -ol
- 7 3 δ -(4-Brom-1-butyloxy)-5 γ -cholestan
- 8 Ameisensäure-(5 γ -cholestan-3 δ -yl)-ester
- 9 4-(5 γ -Cholestan-3 δ -yloxy)-buttersäureethylester
- 10 3 δ -(4-Cyano-1-propyloxy)-5 γ -cholestan
- 11 3 δ -Allyloxy-5 γ -cholestan
- 12 3 δ -(3-Hydroxy-1-propyloxy)-5 γ -cholestan
- 13 5 γ -Cholestan-3 δ -yloxy-essigsäure
- 14 4-(5 γ -Cholestan-3 δ -yloxy)-2-butensäuremethylester
- 15 5 γ -Cholestan-3-on
- 16 Cholest-4-en-3-on
- 17 (5 γ -Cholestan-3-yliden)-malonsäure
- 18 (5 γ -Cholestan-3-yliden)-malonsäure-dimethylester
- 19 (5 γ -Cholestan-3-yliden)-malonsäure-dinitril
- 20 (5 γ -Cholestan-3-yliden)-essigsäure-ethylester
- 21 (5 γ -Cholestan-3 δ -yl)-essigsäure-ethylester
- 22 Dehydrocholsäure
- 23 Desoxycholsäuremethylester
- 24 3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholansäuremethylester
- 25 3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholansäure-(12 γ ,24-dimethoxy-24-oxo-5 δ -cholan-3 γ -yl)-ester
- 26 Lacton
- 27 3 γ ,12 γ -Dihydroxy-5 δ -cholan-24-ol
- 28 3 γ ,12 γ -Dihydroxy-5 δ -cholan-24-yltritylether
- 29 3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-yltritylether

- 30 3γ-Methoxy-5δ-cholansäuremethylester
- 31 3γ,7γ,12γ-Trimethoxy-5δ-cholansäuremethylester
- 32 Lithocholsäuremethylester
- 33 3γ-(9*H*-Fluoren-2-yl-carbamoyl)-5δ-cholansäuremethylester
- 34 3γ-(1-Naphthyl-carbamoyl)-5δ-cholansäuremethylester
- 35 2-(5γ-Cholestan-3δ-yl)-ethanol
- 36 3γ,12γ-Dimethoxy-5δ-cholan-24-ol
- 37 3γ,12γ-Dimethoxy-5δ-cholan-24-ylazid
- 38 1-(5γ-Cholestan-3δ-yl)-2-methansulfonyl-ethan
- 39 3γ,12γ-Dimethoxy-5δ-cholan-24-ylmesylat
- 40 1-Azido-2-(5γ-cholestan-3δ-yl)-ethan
- 41 *N*-(2-Butyl)-2-(5γ-cholestan-3δ-yl)-ethylamin
- 42 2-(5γ-Cholestan-3δ-yl)-ethylamin
- 43 3γ,12γ-Dimethoxy-5δ-cholan-24-ylamin
- 44 3γ,12γ-Dimethoxy-5δ-cholan-24-ylisocyanat
- 45 10-(5-Brom-1-pentyl)-acridin-9(10*H*)-on
- 46 10-(5-Azido-1-pentyl)-acridin-9(10*H*)-on
- 47 10-(5-Amino-1-pentyl)-acridin-9(10*H*)-on
- 48 10-(4-Penten-1-yl)-acridin-9(10*H*)-on
- 49 10-[5-(4-Hydroxy-(*Z*)-2-buten-1-yloxy)-1-pentyl]-acridin-9(10*H*)-on
- 50 Hepta-*O*-acetyl-γ-_D-lactosylbromid
- 51 10-{5-[4-(Hepta-*O*-acetyl-δ-_D-lactosyloxy)-(Z)-2-buten-1-yloxy]-1-pentyl}-acridin-9(10*H*)-on
- 52 (*Z*)-4-(2-Propinyloxy)-2-buten-1-ol
- 53 (*Z*)-4-(2-Propinyloxy)-2-buten-1-yl-hepta-*O*-acetyl-δ-_D-lactosid
- 54 [1-(2-(5γ-Cholestan-3δ-yl)-ethyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl]-methanol
- 55 [1-(2-(5γ-Cholestan-3δ-yl)-ethyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl]-benzol
- 56 {4-[1-(2-(5γ-Cholestan-3δ-yl)-ethyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl]-methoxy-(*Z*)-2-buten-1-yloxy}-hepta-*O*-acetyl-δ-_D-lactosid
- 57 {4-[1-(3γ,12γ-Dimethoxy-5δ-cholan-24-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl]-methoxy-(*Z*)-2-buten-1-yloxy}-hepta-*O*-acetyl-δ-_D-lactosid

- 58 10-{5-[4-((4-(Hepta-*O*-acetyl- δ -D-lactosyloxy)-(Z)-2-buten-1-yloxy)-methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl]-pentyl}-acridin-9-(10*H*)-on
- 59 {4-[1-(2-(5 γ -Cholestan-3 δ -yl)-ethyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl]-methoxy-(Z)-2-buten-1-yloxy}- δ -D-lactosid
- 60 {4-[1-(3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl]-methoxy-(Z)-2-buten-1-yloxy}- δ -D-lactosid
- 61 10-{5-[4-((4-(δ -D-Lactosyloxy)-(Z)-2-buten-1-yloxy)-methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl]-pentyl}-acridin-9-(10*H*)-on
- 62 Allyl-hepta-*O*-acetyl- δ -D-lactosid
- 63 10-(5-Allyloxy-1-pentyl)-acridin-9(10*H*)-on
- 64 10-(*N*-Acryloyl-5-aminopentyl)-acridin-9(10*H*)-on
- 65 10-{5-[4-(Hepta-*O*-acetyl- δ -D-lactosyloxy)-(E)-2-buten-1-yloxy]-1-pentyl}-acridin-9(10*H*)-on
- 66 1,4-Bis-[5-(acridin-9(10*H*)-on-10-yl)-1-pentyloxy)-(E)-2-buten
- 67 10-[6-(Hepta-*O*-acetyl- δ -D-lactosyloxy)-(E)-4-hexen-1-yl]-acridin-9(10*H*)-on
- 68 (E)-4-(Hepta-*O*-acetyl- δ -D-1-lactosyl)-2-butensäuremethylester
- 69 10-{*N*-[4-(Hepta-*O*-acetyl- δ -D-lactosyloxy)-(E)-1-oxo-2-buten-1-yl]-5-amino-1-pentyl}-acridin-9(10*H*)-on
- 70 Acrylsäurebenzylester
- 71 2-Cyclohexen-1-on
- 72 3-Azidopropionsäurebenzylester
- 73 3-Azidocyclohexanon
- 74 3-(4-Phenyl-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-cyclohexan-1-on
- 75 3 γ ,12 γ -Dimethoxy-24-oxo-5 δ -cholan
- 76 *N*-(3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-yl)-7-aminonaphthalin-1,3-disulfonsäure
- 77 *N*-(2-(5 γ -Cholestan-3 δ -yl)-ethyl)-maleinsäuremonoamid
- 78 *N*-(3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-yl)-maleinsäuremonoamid
- 79 *N*-[5-(Acridin-9(10*H*)-on-10-yl)-1-pentyl]-maleinsäuremonoamid
- 80 3 γ -Hydroxy-5 δ -cholan-24-ol
- 81 3 γ -Methoxy-5 δ -cholan-24-ol
- 82 3-Oxocholansäuremethylester
- 83 3-Hydroxy-3-(2-propen-1-yl)-cholansäuremethylester
- 84 3-Fluor-3-(2-propen-1-yl)-cholansäuremethylester

- 85 3-(2-Bromethyliden)-cholansäuremethylester
- 86 Acetylessigsäure-(3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-yl)-ester
- 87 *N*-(3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-yl)-acetylessigsäureamid
- 88 10-{5-[4-(2-Acetamido-2-desoxy- δ -D-glucosyloxy)-(Z)-2-buten-1-yloxy]-pentyl}-acridin-9-(10*H*)-on
- 89 10-{5-[4-((4-(2-Acetamido-2-desoxy- δ -D-glucosyloxy)-(Z)-2-buten-1-yloxy)-methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl]-pentyl}-acridin-9-(10*H*)-on
- 90 10-{5-[4-((2-Acetamido-2-desoxy- γ -D-glucosyloxy)-methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl]-pentyl}-acridin-9-(10*H*)-on
- 91 10-[5-(δ -D-Lactosyloxy)-pentyl]-acridin-9-(10*H*)-on
- 92 10-{5-[4-(γ -D-Lactosyloxy)-(Z)-2-buten-1-yloxy]-pentyl}-acridin-9-(10*H*)-on
- 93 10-{5-[4-((2-Acetamido-2-desoxy- δ -D-lactosyloxy)-methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl]-pentyl}-acridin-9-(10*H*)-on
- 94 10-{5-[4-((*N*-Acetylneuraminsäure-(2,6)-2-Acetamido-2-desoxy- δ -D-lactosyloxy)-methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl]-pentyl}-acridin-9-(10*H*)-on
- 95 10-{5-[4-((4-(*N*-Acetyl-5-amino-3,5-didesoxy- γ -D-galacto-2-octulopyranosylonsäure-(2,3)- δ -D-lactosyloxy)-(Z)-2-buten-1-yloxy)-methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl]-pentyl}-acridin-9-(10*H*)-on
- 96 10-{5-[4-((4-(*N*-Propionyl-5-amino-3,5-didesoxy- γ -D-galacto-2-octulopyranosylonsäure-(2,3)- δ -D-lactosyloxy)-(Z)-2-buten-1-yloxy)-methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl]-pentyl}-acridin-9-(10*H*)-on
- 97 10-{5-[4-((4-(*N*-Butyryl-5-amino-3,5-didesoxy- γ -D-galacto-2-octulopyranosylonsäure-(2,3)- δ -D-lactosyloxy)-(Z)-2-buten-1-yloxy)-methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl]-pentyl}-acridin-9-(10*H*)-on
- 98 10-{5-[4-((4-(*N*-Crotonyl-5-amino-3,5-didesoxy- γ -D-galacto-2-octulopyranosylonsäure-(2,3)- δ -D-lactosyloxy)-(Z)-2-buten-1-yloxy)-methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl]-pentyl}-acridin-9-(10*H*)-on
- 99 10-{5-[4-((4-(*N*-Valeryl-5-amino-3,5-didesoxy- γ -D-galacto-2-octulopyranosylonsäure-(2,3)- δ -D-lactosyloxy)-(Z)-2-buten-1-yloxy)-methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl]-pentyl}-acridin-9-(10*H*)-on

1. Einleitung

1.1 Vorwort

„Mit Zauberkugeln nach den Erregern schießen“ – diese von Paul Ehrlich geprägte Metapher stand zu Beginn des 20. Jahrhunderts für das neuartige therapeutische Konzept der gezielten Behandlung von Infektionskrankheiten durch chemische Verbindungen.^[1] Mit der Einführung von Salvarsan, dem ersten

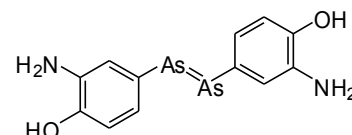


Abb. 1: Salvarsan (links) und die von Paul Ehrlich angenommene Struktur (rechts).

gezielt antimikrobiell wirkenden Medikament, durch Hoechst begann der Siegeszug der Chemotherapeutika und zugleich die Entwicklung einer phänomenologisch orientierten Pharmaforschung. Trotz aller Erfolge sind jedoch autogene oder retroviral bedingte Erkrankungen wie Parkinson oder AIDS durch auf zellulärer Ebene wirkende Chemotherapeutika allenfalls therapierbar – oft mit erheblichen unerwünschten Nebenwirkungen. Ein tieferes Verständnis der Ursachen dieser Erkrankungen und damit der Zugang zu alternativen Therapieansätzen ist erst durch den explosionsartigen Fortschritt in der Molekularbiologie und verwandter Disziplinen möglich geworden. Die gezielte Interaktion mit dem Erbgut bzw. bestimmten Proteinen erfordert die Entwicklung hochspezifischer Wirkstoffe und Antagonisten – eine Aufgabe, die aufgrund der großen Vielzahl zu synthetisierender Substanzen, die für moderne Screeningverfahren benötigt wird, mit den Methoden der klassischen Chemie nicht zu bewältigen ist.

1.2 Synthese und Aufarbeitung

Zur organischen Synthese gehört nicht nur die Reaktion selbst, sondern auch die Isolierung und Reinigung sowie die Analytik der Produkte. Dementsprechend wird auch die Ausbeute einer Reaktion von der Reaktionsführung und der folgenden Aufarbeitung beeinflusst. Von einer effizienten Synthese erwartet man folglich nicht nur eine hohe Selektivität, sondern auch eine unkomplizierte und schnelle Aufarbeitung, die das Produkt in möglichst hoher Reinheit und Ausbeute liefert. Während die Synthesemethoden in den letzten Jahrzehnten stark verbessert und

weiterentwickelt wurden, hat sich die Aufarbeitung, wie sie routinemäßig durchgeführt wird, kaum verändert.

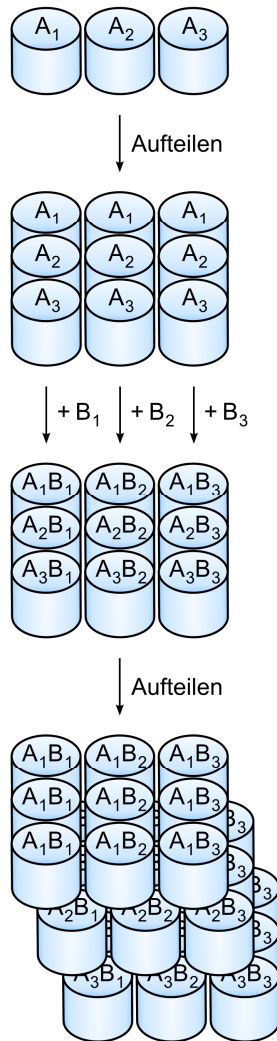
Vor allem in der pharmazeutischen Forschung stößt die konventionelle organische Synthese an ihre Grenzen. Dank des großen und ständig wachsenden Verständnisses von Molekularbiologie und Gentechnologie vermag man heute mit einer Krankheit in Zusammenhang stehende Proteine zu identifizieren, herzustellen und isoliert studieren. Anhand der Strukturen dieser Proteine lassen sich mit Hilfe der Computerchemie Leitstrukturmotive ermitteln. Auf diesem Weg erhält man hunderte oder sogar tausende von berechneten Strukturen. Über effiziente *in-vitro*-Verfahren wie dem *high-throughput screening* lassen sich Millionen dieser Verbindungen in kürzester Zeit auf ihre biologische Aktivität hin untersuchen, vorausgesetzt, sie stehen in Substanz zur Verfügung.^[2] Die konventionelle organische Synthese, bei der einzelne Substanzen sequenziell synthetisiert werden, kann den Bedarf einer großen Anzahl von strukturell unterschiedlichen Substanzen nicht erfüllen,^[3] zumal traditionelle Aufarbeitungsmethoden wie Extraktion, Destillation oder Umkristallisation, aber auch chromatographische Verfahren zu zeit-, arbeits- und damit kostenintensiv sind. Der Schlüssel zur Bewältigung dieser Aufgabe liegt nicht nur darin, die Durchführung der Reaktionen zu parallelisieren, sondern auch zeitraubende und arbeitsintensive Aufarbeitungsschritte zu vermeiden. Während der Anfänge der kombinatorischen Chemie lieferte die Festphasensynthese ein probates Werkzeug, um die sich aus der Aufarbeitung ergebenden Herausforderungen zu bewältigen. Dies führte nicht nur zu einer Vereinfachung und Beschleunigung, sondern eröffnete vor allem die Möglichkeit der Automatisierung von Syntheseoperationen. Mittlerweile existieren eine ganze Reihe von effizienten Methoden für eine technisch vereinfachte Aufarbeitung^[4], wie Phasenseparationstechniken (fluorige Phasen, ionische Flüssigkeiten, überkritische Flüssigkeiten), fluorige Festphasenextraktion (F-SPE) und festphasenunterstützte Reaktionen, um nur einige zu nennen. Die folgenden Kapitel werden einen Teil dieser Methoden näher behandeln.

1.3 Kombinatorische Chemie

Ziel der kombinatorischen Chemie ist es, möglichst schnell eine möglichst große Zahl chemischer Verbindungen mit breiter struktureller Vielfalt bereitzustellen. Erfolgreiche Methoden für kombinatorische oder parallele Synthese vereinen daher effiziente Kupplungsreaktionen mit einfachen Aufarbeitungsschritten. Im Idealfall befindet sich das Produkt einer Reaktion in einer anderen Phase als der gesamte Rest der Reaktionsmischung^[5], so dass eine einfache Phasenseparation das reine Produkt liefert. Die Vielfalt an traditionellen Reagenzien und

Katalysatoren wird heute zunehmend um ihre wasserlöslichen^[6,7] oder an Polymere gebundenen Analoga^[7,8,9] erweitert. Für jede dieser Modifikationen gibt es eine Technik der Phasenseparation, mit der sich die entsprechenden Chemikalien selektiv abtrennen lassen.

Parallelsynthese



Mix-and-Split-Synthese

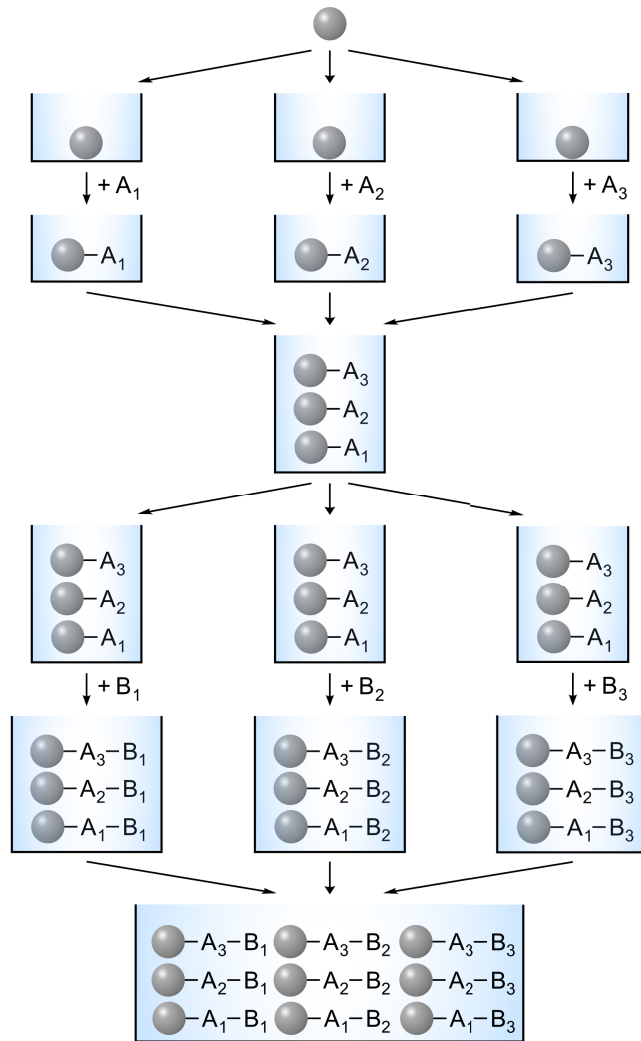


Abb. 2: Vergleich von Parallelsynthese und Mix-and-Split-Verfahren.

Nach kombinatorischen Prinzipien hergestellte Substanzen liegen entweder einzeln (Parallelsynthese) oder als definierte Gemische mit anderen Zielmolekülen („Mix-and-Split“-Synthese) vor. Zur Herstellung von Einzelsubstanzen wird die so genannte Parallelsynthese verwendet. Hierbei werden verschiedene Substanzen mit derselben Synthesemethode jeweils in einem eigenen Reaktionsgefäß umgesetzt (s. Abb. 2). Sollen z. B. drei Substanzen A_1 bis A_3 nach demselben Verfahren mit drei verschiedenen Substanzen B_1 bis B_3 umgesetzt werden, werden die Substanzen A_1 bis A_3 auf jeweils drei Reaktionsgefäße aufgeteilt und mit B_1 bis B_3 zur Reaktion

gebracht. Für eine weitere Reaktion mit C_1 bis C_3 müssten die Produkte A_nB_m wiederum auf jeweils drei Reaktionsgefäße (insgesamt also 27) aufgeteilt werden. Für eine effiziente Durchführung ist sowohl eine automatisierte Reaktionsführung als auch eine automatisierte Aufarbeitung unabdingbar.^[6]

Bei Anwendung des „Mix-and-Split“-Verfahrens erhält man im Gegensatz zur Parallelsynthese eine definierte Mischung (s. Abb. 2).^[10] Zur Durchführung werden beispielsweise drei Substanzen A_1 bis A_3 an einen polymeren Träger gebunden, daraufhin vermischt und gleichmäßig auf drei Reaktionsgefäße verteilt. Die Mischungen werden mit jeweils einer der Substanzen B_1 bis B_3 umgesetzt, wobei insgesamt neun Produkte entstehen. Zur weiteren Umsetzung dieser Produkte mit C_1 bis C_3 werden diese wieder gemischt und erneut auf drei Reaktionsgefäße aufgeteilt. Mit nur drei Schritten hat man eine Bibliothek von 27 Substanzen aufgebaut.

Die Verwendung der Festphasensynthese hat hier den Vorteil, dass an jedem Polymerkügelchen genau eine definierte Substanz gebunden ist („one bead – one compound“^[11]). Die Abspaltung der Produkte kann dann für jedes dieser Kügelchen getrennt erfolgen, ebenso wie nachfolgende pharmakologische Untersuchungen. Wird eine Substanz positiv getestet, kann die Identität dieser Substanz über Standardverfahren (NMR, IR, usw.) bestimmt werden. Noch einfacher wird die Identifizierung der aktiven Verbindung, wenn an den einzelnen Kügelchen eine unabhängige Markierung angebracht wird (*tagging*). Diese Markierung kann durch eine Vielzahl alternativer Methoden erfolgen. Das Spektrum reicht von chemisch gebundenen Reportermolekülen bis hin zu Miniaturradiansendern in den einzelnen Polymerkügelchen.^[12,13] Wurde das „Mix-and-Split“-Verfahren ohne Festphasenbeteiligung durchgeführt oder das gesamte Gemisch von der Festphase abgespalten und getestet, muss nach einem positiven Screening eine so genannte Dekonvolution durchgeführt werden.^[14,15,16] Hierbei werden Teile der positiv getesteten Mischung erneut synthetisiert und auf ihre Aktivität hin getestet. Dieses Verfahren ist besonders bei großen Substanzbibliotheken und langen Synthesesequenzen sehr aufwendig und fehleranfällig.

1.4 Festphasensynthesen

1.4.1 Festphasensynthese nach Merrifield

Um die Probleme beim Aufbau von linearen Polypeptiden, insbesondere bei der Aufarbeitung der einzelnen repetitiven Reaktionsschritte zu umgehen, entwickelte Merrifield in den 60er Jahren die

Festphasensynthese (s. Abb. 3).^[17,18] Reaktionen finden dann in einem Zweiphasensystem statt: eine feste Phase (daher der Name) bestehend aus dem unlöslichen Polymer, an das die erste Aminosäure gebunden ist, und eine flüssige Phase mit darin gelösten Reaktanden. Nach der Reaktion wird das Polymer von der Reaktionslösung abfiltriert und gewaschen und so von den Reaktanden getrennt. Mit dem immer noch an das Polymer gebundenen Produkt können nun weitere Reaktionszyklen durchgeführt werden. Am Ende der Synthesesequenz wird das Endprodukt vom Polymer abgespalten. Die Vorteile dieser Methode liegen auf der Hand: Sie ist schnell und einfach durchzuführen. Besonders das Wegfallen der früher notwendigen Kristallisation oder Chromatographie der Zwischenprodukte bedeutet eine große Vereinfachung der Synthese.

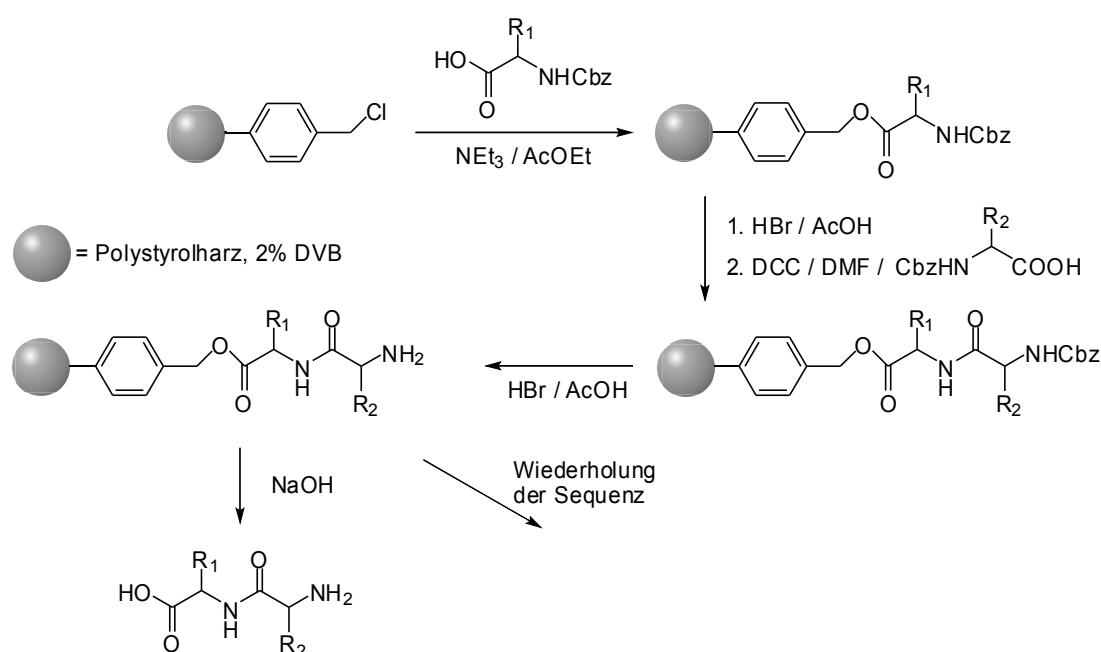


Abb. 3: Synthese eines Dipeptids mit Hilfe der Festphasensynthese.

Inzwischen hat sich die Festphasensynthese nicht nur zur Herstellung von Polypeptiden, sondern auch zur Herstellung von Oligonucleotiden und Oligosacchariden etabliert.^[19] Das Prinzip ist dabei immer dasselbe: Ein Substrat wird über einen selektiv spaltbaren Linker^[20,21] an ein Polymerharz gebunden. Um den Abstand zwischen Matrix und Substrat zu vergrößern und so die sterische Abschirmung der zu modifizierenden Funktionalität zu minimieren, kann zusätzlich noch ein Spacer zum Einsatz kommen (s. Abb. 4).

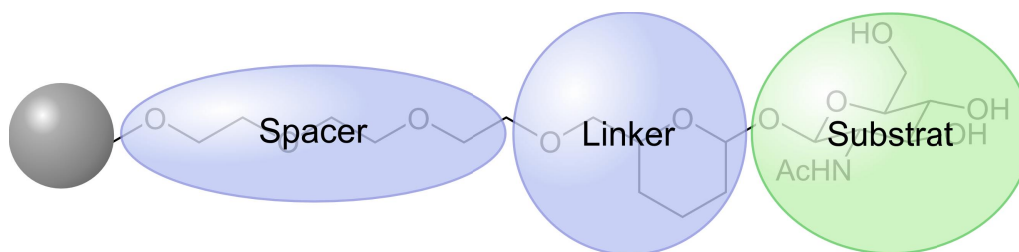


Abb. 4: Schematische Darstellung eines an die Festphase gebundenen Substrates (hier N-Acetylglucosamin).

Eine ganze Reihe von Vorschriften für Synthesen in Lösung wurden darüber hinaus an die besonderen Anforderungen der Festphasenreaktionen angepasst, so dass inzwischen auch für die Herstellung von „kleinen Molekülen“ an der Festphase eine große Anzahl von Reaktionen zur Verfügung steht.^[22]

Die Bindung des Substrates an einen unlöslichen Träger bietet gegenüber der Chemie in homogener Phase eine Reihe entscheidender Vorteile.^[6] Reaktanden in der Volumenphase können in großem Überschuss eingesetzt werden, woraus eine erhöhte Reaktionsgeschwindigkeit und bei Gleichgewichtsreaktionen eine Verschiebung des Gleichgewichts hin zur Produktseite resultiert. Die zugesetzten Reaktionspartner können durch Abfiltrieren und Waschen des polymeren Trägers leicht entfernt werden. Zudem sind die gebundenen Substrate durch die Polymermatrix räumlich voneinander getrennt, und die daraus resultierende Pseudoverdünnung vermindert Nebenreaktionen.^[23,24] All dies ermöglicht eine wesentlich einfachere Automatisierung der einzelnen Reaktionsschritte und vor allem deren Aufarbeitung, als dies bei der Chemie in Lösung der Fall ist.^[25,26]

Neben diesen Vorteilen gibt es allerdings auch einige Aspekte, die sich nachteilig auswirken können. Zunächst ist die Wahl einer geeigneten polymeren Trägermatrix von großer Bedeutung. Diese muss unter den Reaktionsbedingungen natürlich chemisch inert sein. Das Polymer sollte außerdem im verwendeten Lösungsmittel quellen, damit auch in den Poren gelegene Bindungsstellen für das Reaktionsmedium zugänglich sind.^[27] Die Diffusion in und aus diesen Poren führt darüber hinaus zu einer Beschränkung der Reaktionsgeschwindigkeit.^[28] Eine weitaus größere Bedeutung kommt der Wahl eines geeigneten Linkers zu, der das Substrat mit der Matrix verbindet. Auch dieser Linker muss unter den – bei Mehrstufensynthesen verschiedenen – Reaktionsbedingungen stabil, aber gleichzeitig auch leicht und selektiv spaltbar sein, damit das Produkt wieder von der Festphase getrennt werden kann. Ein Linker, der unter allen Reaktionsbedingungen einsetzbar ist, existiert

naturgemäß nicht, wodurch dessen Wahl die Auswahl an durchführbaren Reaktion einschränkt. Inzwischen gibt es eine ganze Reihe von Linkern, die mit den unterschiedlichsten Bedingungen gespalten werden.^[20] Neben den klassischen säure- und basenlabilen Gruppen wie Tritylether bzw. Benzoessäureester, die zum Teil aus der Schutzgruppenchemie kommen, gibt es z. B. auch *Safety-Catch*-Linker, die vor der eigentlichen Spaltung aktiviert werden müssen, biokatalytische Schutzgruppenoperationen^[29] oder photolabile Linker. Eine besondere Bedeutung kommt den so genannten *traceless*-Linkern zu, die nach der Abspaltung keine funktionelle Gruppe im abgespaltenen Molekül hinterlassen.^[21]

Sollen Zwischenprodukte charakterisiert werden oder ist aufgrund unvollständigen Umsatzes eine weitere Reinigung notwendig, erweist sich die kovalente Verknüpfung mit der Festphase als Nachteil. Für eine Trennung von ebenfalls polymergebundenen Nebenprodukten – sei es durch Umkristallisation, Chromatographie, oder ähnliches – muss auf jeden Fall eine Abspaltung von der Festphase und nach der Reinigung eine erneute Anbringung erfolgen. Diese zusätzlichen Reaktionen gehen naturgemäß mit Ausbeuteverlusten einher. Bei der Analytik der gebundenen Produkte bereitet das unlösliche und im Überschuss vorliegende Polymer Probleme, so dass herkömmliche Methoden (NMR, IR, MS) nur schwer anwendbar sind. Mit speziellen Varianten^[30] wie FT-IR^[31], FT-Raman-Spektroskopie und ¹³C-NMR am Festkörper („*magic angle spinning*“ NMR) oder in der Gelphase^[32] lässt sich zwar eine Charakterisierung durchführen, die Ergebnisse sind jedoch nur bedingt zufriedenstellend. Hinzu kommt der mit diesen Techniken verbundene erhebliche apparative Aufwand. Außerdem stehen die benötigten Spezialgerätschaften nicht überall zur Verfügung.

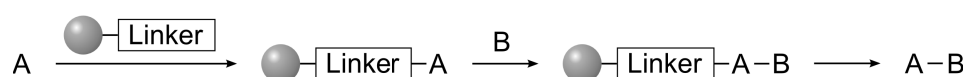
1.4.2 Polymerunterstützte Synthese

Die Verwendung von Polymeren beschränkt sich nicht nur darauf, wie bei der klassischen Festphasensynthese (s. Abb. 5, Methode 1), Substrate an einen polymeren Träger zu binden. Bei der polymerunterstützten Synthese werden andere für die Reaktion benötigte Reagenzien immobilisiert. Diese Methodik nutzt bestimmte Vorteile der klassischen Festphasensynthese und vermeidet zugleich ihre Nachteile. So können an das Polymer gebundene Reagenzien durch Filtration leicht aus dem Reaktionsansatz entfernt werden und, besonders im Fall von Katalysatoren, für weitere Reaktionen wiederverwendet werden. Da das Substrat und somit auch das Produkt in Lösung vorliegt, können weitere Aufarbeitungsschritte und die Analytik wie bei der Synthese in Lösung durchgeführt werden. Bei der festphasenunterstützten Synthese ist es aufgrund des hohen

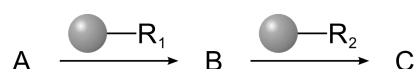
Massenanteils des Trägermaterials nicht möglich, die polymergebunden Reagenzien im (hohen) Überschuss einzusetzen. Ebenso findet keine Pseudoverdünnung des Substrates statt.

Bei der polymerunterstützten Synthese lassen sich aufgrund der Art der eingesetzten Reagenzien noch einmal zwei grundsätzliche Methoden unterscheiden. So werden auf der einen Seite an der Reaktion direkt beteiligte Reagenzien und Katalysatoren eingesetzt (s. Abb. 5, Methode 2).^[33,34,35] Auf der anderen Seite kommen polymergebundene Abfangreagenzien, sogenannte Scavenger, zum Einsatz, um im Überschuss eingesetzte Reagenzien oder Nebenprodukte bequem aus dem Reaktionsansatz zu entfernen (s. Abb. 5, Methode 3).^[36,37,38] Eine ganze Reihe der hierfür erforderlichen polymergebundenen Reagenzien und Katalysatoren ist mittlerweile kommerziell verfügbar.

Methode 1: Synthese an der Festphase



Methode 2: Polymergebundene Reagenzien und Katalysatoren



Methode 3: Polymergebundene Abfangreagenzien (Scavenger)

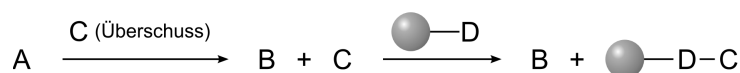


Abb. 5: Anwendungen für polymergebundene Reagenzien.

1.5 Fluorphasen

Von den bereits beschriebenen Nachteilen der herkömmlichen Festphasensynthese (SPOS, „Solid Phase Organic Syntheses“) sind einige auf die kovalente Bindung der Substrate an die Festphase zurückzuführen. Entscheidend ist hierbei vor allem, dass sich die Charakterisierung von Zwischenprodukten aufgrund des hohen Anteils an polymerer Matrix schwierig gestaltet und zudem deren Aufreinigung nicht durchgeführt werden kann, ohne diese zuvor vom polymeren Trägermaterial zu trennen. Eine alternative Strategie zur Phasenseparation, die ohne die Bindung an eine unlösliche Festphase auskommt, wurde maßgeblich von D. P. Curran et al. entwickelt.^[39] Hierbei wird die zu reinigende Substanz mit einer perfluorierten Markierung (engl. *tag*) versehen, die eine Unterscheidung von den anderen in der Reaktionsmischung vorhandenen Substanzen

erlaubt. Die perfluorierte Markierung kann entweder permanent angebracht sein oder lediglich temporär über einen spaltbaren Linker. Der erste Fall wird hauptsächlich für Reagenzien oder Katalysatoren verwendet, der zweite Fall eignet sich auch für die zu modifizierenden Substrate. Da fluorierte Lösungsmittel wie z. B. FC-72 (C_6F_{14} , Isomerengemisch) weder mit Wasser noch mit organischen Lösungsmitteln mischbar sind, lassen sich so genannte „fluorige“ Verbindungen von normalen organischen Molekülen leicht mittels einfacher Aufarbeitungstechniken wie flüssig/flüssig-Extraktion oder fest/flüssig-Extraktion trennen. Zusätzlich lassen sich fluorige Verbindungen anhand ihres Fluorgehalts durch Chromatographie an fluorierten stationären Phasen trennen. Insgesamt werden heute fünf verschiedene Verfahren eingesetzt, welche auf der Verwendung der fluorigen Zwei- und Dreiphasenkatalyse, von fluorigen Reagenzien, fluorigen Substraten (fluorige Synthese) sowie der *fluorous mixture synthesis* beruhen. Die einzelnen Verfahren unterscheiden sich hauptsächlich in Art und Größe der fluorigen Markierung, den Reaktionsbedingungen sowie der Aufarbeitungsmethode.^[40] Dies soll im folgenden anhand zweier gängiger Methoden der fluorigen Chemie näher beschreiben werden.

Die Grundprinzipien der fluorigen Zweiphasensynthese wurde zuerst 1991 von M. Vogt^[41] beschrieben. I. T. Horváth und J. Rabai^[42] führten 1994 die heutige Terminologie sowie eine Reihe neuer Konzepte ein. Bei dieser Methode – und in ähnlicher Art und Weise auch bei der Dreiphasenkatalyse – wird ein Katalysator mit perfluorierter Markierung eingesetzt. Um diesen Katalysator, der in organischen Lösungsmitteln nur schwer löslich ist, in einer homogenen Lösung einsetzen zu können, macht man sich die thermoregulierbare Mischbarkeit von organischen mit fluorierten Lösungsmitteln zu Nutze. Die Reaktion wird in einem Gemisch aus einem organischen und einem fluorhaltigen Lösungsmittel durchgeführt. Während der Reaktion liegt bei erhöhter Temperatur eine homogene Mischung vor, in der sowohl der Katalysator als auch die anderen Reaktionspartner löslich sind. Kühlt die Mischung nach der Reaktion auf Raumtemperatur ab, trennt sich die fluorige von der organischen Phase.^[43] Der eingesetzte Katalysator lässt sich so vollständig vom Produkt abtrennen und wiedergewinnen.

Eine sehr junge Methode zur Trennung fluorierter und nicht fluorierter Verbindungen ist die fluorige Festphasenextraktion (fluorous solid-phase extraction, F-SPE).^[44,45] Diese zeichnet sich gegenüber der flüssig/flüssig-Extraktion mit fluorierten Lösungsmitteln dadurch aus, dass mit fluorigem Silicagel Verbindungen mit wesentlich geringerem Fluorgehalt, wie mit perfluorierten Hexyl- oder Octylmarkierungen versehene Substanzen, selektiv abgetrennt werden können. Unter Umständen lassen sich sogar Verbindungen mit unterschiedlichem Fluorgehalt trennen. Die praktische Trennung

von bis zu 300 mg Rohprodukt erfolgt üblicherweise durch Lösen in DMF und Aufbringen auf eine mit $-\text{SiMe}_2(\text{CH}_2)_2\text{C}_8\text{F}_{17}$ derivatisierte 2-g-SPE-Kartusche. Die Aufreinigung erfolgt durch Gradientenelution mit wässrigen Lösungsmittelsystemen, wobei fluoriierte Verbindungen zunächst auf der Kartusche verbleiben. Diese können dann mit wasserfreien Lösungsmitteln eluiert werden.

Die Verwendung von Fluorphasen und perfluorierten Markierungen besitzt gegenüber der Festphasenchemie einige Vorteile. Die Probleme bei der Aufreinigung und der Charakterisierung von polymergebundenen Produkten existieren nicht bei Verbindungen mit perfluorierten Markierungen. Dennoch lassen sich solche Verbindungen leicht von nicht-markierten trennen. Die verwendeten perfluorierten Markierungen sind chemisch inert, so dass keine Einschränkungen in Bezug auf verwendete Lösungsmittel oder Reaktionsbedingungen bestehen. Eine Einschränkung ergibt sich lediglich durch die zur Bindung des Substrates eingesetzten spaltbaren Linker. Nachteilig ist sicherlich der relativ hohe Preis der meisten fluoriierten Verbindungen, da diese vor allem nicht nur für die Markierung einzelner Reaktionspartner sondern auch als Lösungsmittel und Belegung für Kieselgel eingesetzt werden. Perfluorierte Substanzen sind auch ökologisch nicht unbedenklich.^[46] Die Entsorgung muss durch Hochtemperaturverbrennung mit Reinigung der Abluft erfolgen, da eine biologische Abbaubarkeit aufgrund der äußerst stabilen Kohlenstoff-Fluor-Bindung nicht gegeben ist. Einige der industriell verwendeten fluoriierten Chemikalien zählen aus diesem Grund zu den PBT-Stoffen. Das heißt, sie sind persistent (P), toxisch (T) und weisen eine hohe Bioakkumulation (B) auf, wodurch sie für Mensch und Umwelt ein besonderes Risiko darstellen.

1.6 Reversible Festphasensynthese

Eine im Arbeitskreis von W.-D. Fessner et al.^[47,48,49] entwickelte Methode umgeht die Probleme der kovalenten Bindung an eine Festphase, indem das Substrat nicht direkt an einen polymeren Träger, sondern an eine niedermolekulare, hydrophobe Markierung gebunden wird. Die Bindung an die Festphase – in diesem Fall *reversed-phase*-Kieselgel – erfolgt dann über hydrophobe Wechselwirkungen der Markierung, dem sogenannten „Anker“, mit den Octadecylketten der Matrix (s. Abb. 6).

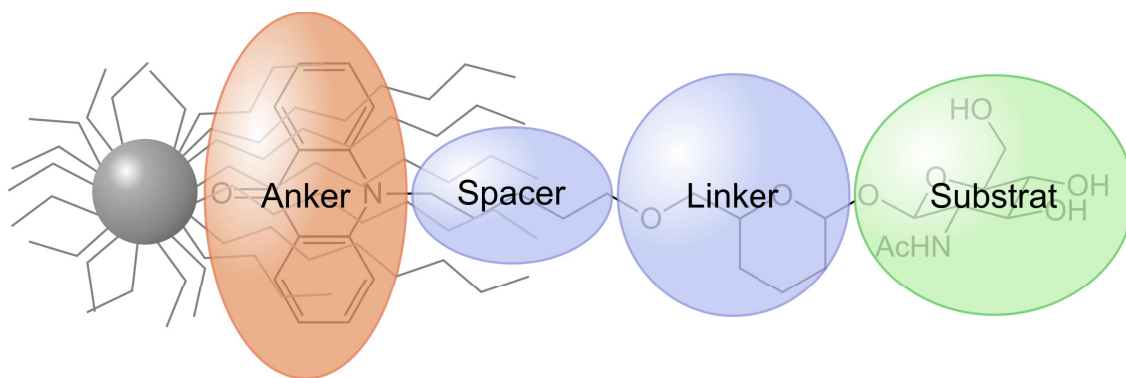


Abb. 6: Schematische Darstellung der Anbindung eines Substrates (hier N-Acetylglucosamin) an RP-Kieselgel über einen hydrophoben Anker (hier Acridon).

Ob der Anker an die Festphase assoziiert, hängt von der Zusammensetzung der verwendeten Flüssigphase ab. In einem polaren, protischen Lösungsmittel wie Wasser findet eine starke Wechselwirkung des Ankers mit dem RP-Kieselgel statt, wodurch das Substrat über den Anker an die Festphase bindet. In diesem Zustand kann, ähnlich einem polymergebundenen Substrat, dieses durch Filtration und Waschen von der umgebenden Lösung und den darin gelösten Reagenzien getrennt werden. In einem weniger polaren Lösungsmittel wie Aceton, Methanol oder THF löst sich die Anker-Substrat-Einheit und kann vom RP-Kieselgel heruntergewaschen werden, was eine Aufreinigung durch Umkristallisation oder chromatographische Verfahren ermöglicht. Zudem ist dann auch eine einfache Charakterisierung des Produktes möglich. Bei kernresonanzspektroskopischen Analysen erhält man zwar immer noch die Signale des Ankers, diese liegen jedoch im selben Intensitätsbereich wie die des gebundenen Substrates, und vereinfachen so die Auswertung im Vergleich zu MAS-Methoden wesentlich.

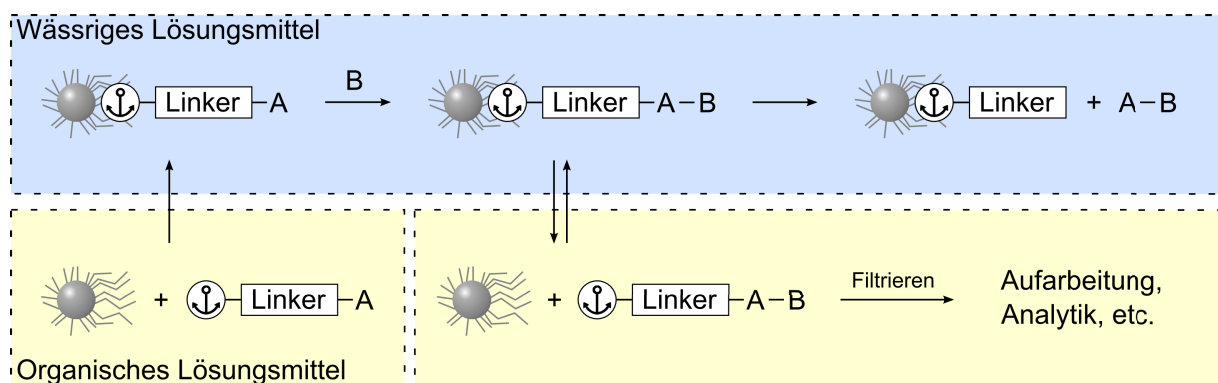


Abb. 7: Durchführung einer reversiblen Festphasensynthese (schematische Darstellung).

Bedingt durch die reversible Natur der Anbindung ergeben sich noch weitere Vorteile. So ist es jederzeit möglich, eine Homogenreaktion in Lösung durchzuführen. Insbesondere Reaktionen, die nicht in homogener Phase durchgeführt werden, wie z. B. Hydrierungen, eignen sich nicht für Festphasenreaktionen. Die hierbei verwendeten unlöslichen Reagenzien sind nur mit nicht zu vertretendem Aufwand von der Trägermatrix zu separieren. Solche Reaktionen können bei reversibler Anbindung ohne Festphasenbeteiligung durchgeführt werden, ohne dass zusätzliche Reaktionen für das Abspalten und Wiederanbringen an die Matrix notwendig werden. Ebenso ist eine einfache Reaktionskontrolle mittels Dünnschichtchromatographie möglich. Dabei muss die Anker-Substrat-Einheit zuvor normalerweise noch nicht einmal von der Festphase getrennt werden.

Gegenüber den bei der herkömmlichen Festphasensynthese verwendeten Harzen (z. B. Polystyrol, PEG-PS) weist RP-Kieselgel eine höhere chemische und mechanische Stabilität auf. Während die Lebensdauer des Harzes die Anzahl der möglichen Reaktionsschritte beschränkt, spielt dieser Aspekt bei der Verwendung von RP-Kieselgel nur eine untergeordnete Rolle. Untersuchungen zur Recyclingfähigkeit der Festphase zeigten, dass über mindestens zehn Reaktionszyklen keine messbare Verschlechterung auftritt.^[48] Sollte dennoch eine Degeneration beobachtet werden, kann die Matrix einfach ausgetauscht werden.

Wie bereits erwähnt wurde, ist bei der Festphasensynthese nach Merrifield die Quelleigenschaft des verwendeten Harzes in verschiedenen Lösungsmitteln zu berücksichtigen. Wird beispielsweise beim Anbringen des Substrates ein Lösungsmittel verwendet, in dem das Harz sehr gut quillt, werden Substratmoleküle, bedingt durch die hohe Permeabilität und hohe Porengröße des gequollenen Harzes, auch in den Poren gebunden. Beim Übergang zu einem Lösungsmittel, in dem das Harz schlechtere Quelleigenschaften aufweist, sind diese Moleküle dann nicht mehr erreichbar, was den Umsatz und erzielbare Ausbeute verringert. RP-Kieselgel zeigt demgegenüber kaum Quellverhalten, so dass die Porengröße praktisch unabhängig vom Lösungsmittel ist. Je nach verwendetem Material sind die Poren außerdem so klein, dass Reaktionen ausschließlich an der Oberfläche der Matrix stattfinden und daher keine Diffusionshemmung auftritt. Außerdem sind die Substrate nicht kovalent mit der Kieselgeloberfläche verbunden und sollten dementsprechend eine gewisse dynamische Mobilität aufweisen. Einschränkungen bei der Lösungsmittelwahl sind dennoch gegeben. Reaktionen können zwar aufgrund der reversiblen Anbindung jederzeit ohne Festphase in jedem beliebigen Lösungsmittel durchgeführt werden, die Vorteile der Festphasensynthese – also einfaches Entfernen von Reagenzien durch Abfiltrieren des an die Festphase gebundenen Produktes – kommen jedoch nur in Wasser oder stark wasserhaltigen Lösungsmittelgemischen zum Tragen. In

organischen Lösungsmitteln ist eine Bindung an die Festphase nicht in ausreichendem Maße gegeben.

Ein weiterer Vorteil dieser Methode ist das variable Verhältnis von Substrat zu Festphase (RP-Kieselgel). Während bei der herkömmlichen Festphasensynthese die mögliche Belegung durch das Vorhandensein bzw. die Menge an entsprechenden funktionellen Gruppen begrenzt ist, kann das Verhältnis von RP-Kieselgel zu Anker/Substrat im Prinzip frei gewählt werden. Die maximale Belegung eines Harzes reicht von 0.3 bis 1.5 mmol/g in Abhängigkeit vom verwendeten polymeren Träger. Bei bisher publizierten reversiblen Festphasensynthesen wurden bis zu 2 mmol Substrat auf 1 g RP-Kieselgel aufgebracht.^[48] Bei noch stärkerer Reduktion des Anteils an RP-Kieselgel ist zu beachten, dass der positive Einfluss der Pseudoverdünnung wegfällt.

Eine reversible Anbindung über hydrophobe Wechselwirkungen basiert auf dem Verteilungsgleichgewicht einer Substanz (Anker-Substrat-Einheit) zwischen einer unpolaren (festen) und einer polaren, protischen (flüssigen) Phase. Auf die Lage dieses Gleichgewichtes haben nicht nur das Lösungsmittel und die Größe und geometrische Struktur des unpolaren Ankers Einfluss, sondern auch die Polarität des gebundenen Substrates. Letztere ändert sich naturgemäß im Verlauf der Synthesesequenz und ist bei der Wahl eines geeigneten Ankers zu beachten.

2. Zielsetzung

Die reversible Festphasensynthese macht sich hydrophobe Wechselwirkungen zwischen einem unpolaren Molekül – Anker genannt – und lipophile stationäre Phase wie RP-Kieselgel zunutze, um ein an dieses Molekül gebundenes Substrat ohne Zuhilfenahme kovalenter oder ionischer Bindungen zu immobilisieren. Die Güte dieser Immobilisierung hängt von einer Reihe von Faktoren ab, unter anderem von der Größe und Polarität des Ankers, vom Lösungsmittel und vom Substrat. Der Verteilungskoeffizient der Anker-Substrat-Einheit zwischen flüssiger und fester Phase verschiebt sich also mit zunehmender Polarität des Substrates zugunsten der flüssigen Phase. Um auch bei großen, polaren Molekülen wie z. B. Oligosacchariden eine exklusive Anbindung an die Matrix zu gewährleisten, und damit die Konzentration im Lösungsmittel und die Verluste bei Waschvorgängen niedrig zu halten, wird ein möglichst großer, weitgehend unfunktionalisierter Anker benötigt.

Bisherige, mittels reversibler Festphasensynthese durchgeführte Reaktionen verwendeten als Anker Acridon (**1**)^[47,48,49], das wegen seiner hohen Fluoreszenzausbeute bei gleichzeitiger, hoher chemischer Stabilität ausgewählt wurde. Es zeigte für kleine, wenig polare Moleküle eine hinreichend gute Bindung zur Festphase, bei der Umsetzung von Disacchariden konnten allerdings schon quantifizierbare Mengen im Waschwasser nachgewiesen werden. An den Anker gebundene Trisaccharide

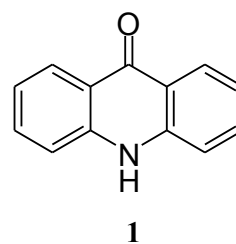


Abb. 8: Acridon (**1**)

befanden sich bereits zu einem nicht unerheblichen Teil in der flüssigen Phase, was die isolierbare Ausbeute mindert. Als Anker mit höherer Affinität zu RP-Kieselgel kommen also nur größere und weniger funktionalisierte Verbindungen als Acridon in Frage. Darüber hinaus sollten noch einige ökologische und ökonomische Bedingungen Beachtung finden. So sind in jedem Fall ungiftige Verbindungen zu bevorzugen. Da trotz der geplanten Wiederverwendbarkeit des Ankers ein Verlust unumgänglich ist, spielt auch der Preis für eine kosteneffiziente Synthesestrategie eine Rolle. Aufgrund dieser Überlegungen schieden z. B. polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAKs) aufgrund ihrer Giftigkeit und eine ganze Reihe von Naturstoffen (Terpene) aufgrund ihres hohen Preises aus.

Das ubiquitäre Sterin Cholesterol (**2**) und die strukturverwandte Gruppe der Gallensäuren, Cholsäure (**3**), Desoxycholsäure (**4**) und Lithocholsäure (**5**), bieten sich aus oben genannten Gründen als Ausgangssubstanzen für die Entwicklung von Ankermolekülen an. Die bekannte Affinität von Cholesterol zu Lipiddoppelschichten^[50] und die Rolle

der Gallensäuren als Lösungsvermittler^[51] zwischen lipophilen Verbindungen und dem körpereigenen Lösungsmittel Wasser prädestinieren diese als Anker bei der reversiblen Festphasensynthese.

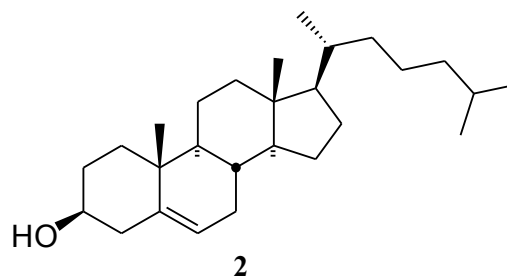


Abb. 9: Cholesterol (**2**)

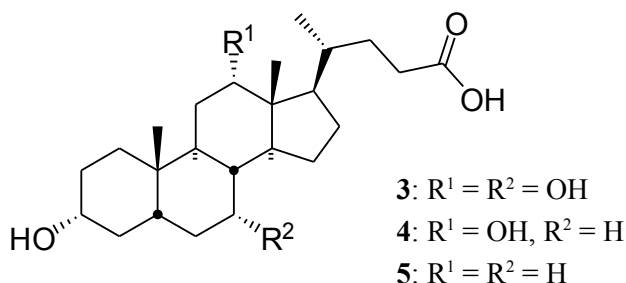


Abb. 10: Die Gallensäuren Cholsäure (**3**), Desoxycholsäure (**4**) und Lithocholsäure (**5**).

Linkerfunktionen lassen sich an die Alkoholfunktion des Cholesterols über einen zusätzlichen Spacer anbinden. Bei den Cholsäuren kann die Carbonsäuregruppe direkt als Linker fungieren. Da sie sich am Ende einer flexiblen Kohlenstoffkette befindet, ist die Einführung eines Spacers hier nicht

notwendig. Die zusätzlichen Hydroxylgruppen der Gallensäuren können entweder hydrophob maskiert oder zum Anbringen von verschiedenen Markierungen, z. B. Fluoreszenzfarbstoffen oder Radiomarkierungen, genutzt werden.

Ziel dieser Arbeit war es, die oben genannten Steroide für ihre Anwendung als hydrophobe Anker in Festphasensynthesen mit reversibler Verankerung zu modifizieren, das heißt mit Linkern zum Anbinden von Substraten zu versehen und zusätzliche, nicht benötigte Funktionalitäten zu entfernen oder zumindest zu maskieren. Um die Anbindung verschiedener Substrate zu ermöglichen, sollten verschiedene Linkerfunktionalitäten synthetisiert werden. Von besonderem Interesse waren hierbei funktionelle Gruppen, die die Immobilisierung von Zuckerstrukturen erlauben. Die Synthese der Linker-Einheiten sollte nach dem „Baukastenprinzip“ erfolgen, so dass aus einer Ankervorstufe möglichst viele verschiedene Linkerfunktionalitäten zur Anbindung von Substraten synthetisiert werden können. Um kostengünstig auch größere Mengen an Ankermaterial herstellen zu können, waren alle Synthesen hinsichtlich des Preises, der Stöchiometrie der verwendeten Edukte und einer einfachen Aufarbeitung zu optimieren. Anschließend sollte die Bindungsstärke der neuen Anker zur

Festphase in Abhängigkeit vom Lösungsmittel und dem gebundenen Substrat bestimmt und mit der etablierten acridonbasierten Methodik verglichen werden. Hierzu war die Entwicklung einer quantifizierenden Analytik notwendig.

3. Allgemeiner Teil

3.1 Cholesterol

3.1.1 Struktur des Cholesterols

Cholesterol^[52] (5-Cholesten-3 β -ol) findet sich in allen Teilen tierischer Körper, primär jedoch in Gehirn und Rückenmark. Obwohl es selbst keine nennenswerten physiologischen Eigenschaften besitzt, ist es das wichtigste Steroid der Wirbeltiere, da es als Ausgangsstoff für die Biosynthese aller anderen Steroide dient. 1775 wurde es von J. J. Conradi aus menschlicher Galle isoliert und ist damit das am längsten bekannte Steroid. Den Namen *Cholesterin* bekam es 1815 von M. E. Chevreul aufgrund seines Vorkommens in Gallensteinen (griech. chole = Galle, stereos = fest). Heute wird es hauptsächlich aus Schafswolle bzw. Lanolin (Wollwachs) gewonnen. Die aktuelle Forschung beschäftigt sich vor allem mit dem Cholesterin-Stoffwechsel, da dessen Störung im höheren Alter zu Ablagerungen an den Arterienwänden und damit zu Arteriosklerose führt.

Gegenüber vergleichbar unpolaren Molekülen wie Fettsäuren oder -alkoholen besitzt Cholesterol eine größere hydrophobe Oberfläche. Letztere ist zudem nicht vom Lösungsmittel abhängig, da eine Knäuelbildung, wie sie bei linearen Alkanen in lipophoben Lösungsmitteln auftritt, aufgrund der starren Struktur der anellierten Ringsysteme nicht möglich ist. Bei einer Synthese des Ankermaterials in Multigrammmengen sollte zudem die generell gute Kristallisierbarkeit von Steroiden die Aufarbeitung vereinfachen. Strukturverwandte kommerzielle Verbindungen wie die Sterole Ergosterol, Stigmasterol und δ -Sitosterol besitzen zwar analoge Eigenschaften, jedoch einen wesentlich höheren Preis.

Zur Anbindung von Substraten lassen sich die funktionellen Gruppen des Cholesterols – die äquatoriale OH-Gruppe an C-3 und die Doppelbindung im B-Ring (s. Abb. 11) – nur eingeschränkt verwenden. Dies ist zum einen darauf zurückzuführen, dass sie sich direkt am Grundgerüst des Cholesterols befinden und damit sterisch gehindert sind, und zum anderen, dass eine Umwandlung in andere funktionelle Gruppen nur bedingt möglich ist.

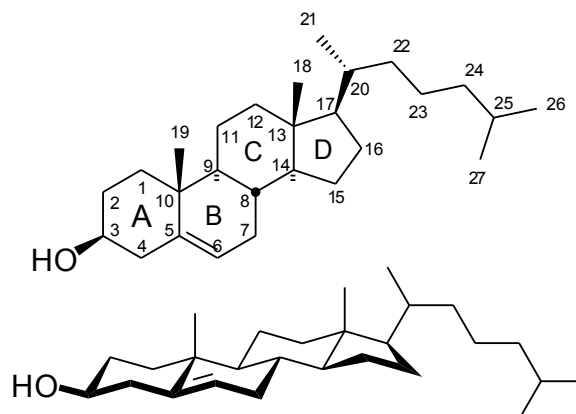


Abb. 11: Struktur und Untergliederung des 5-Cholesten-3 δ -ols (Cholesterol, 2).

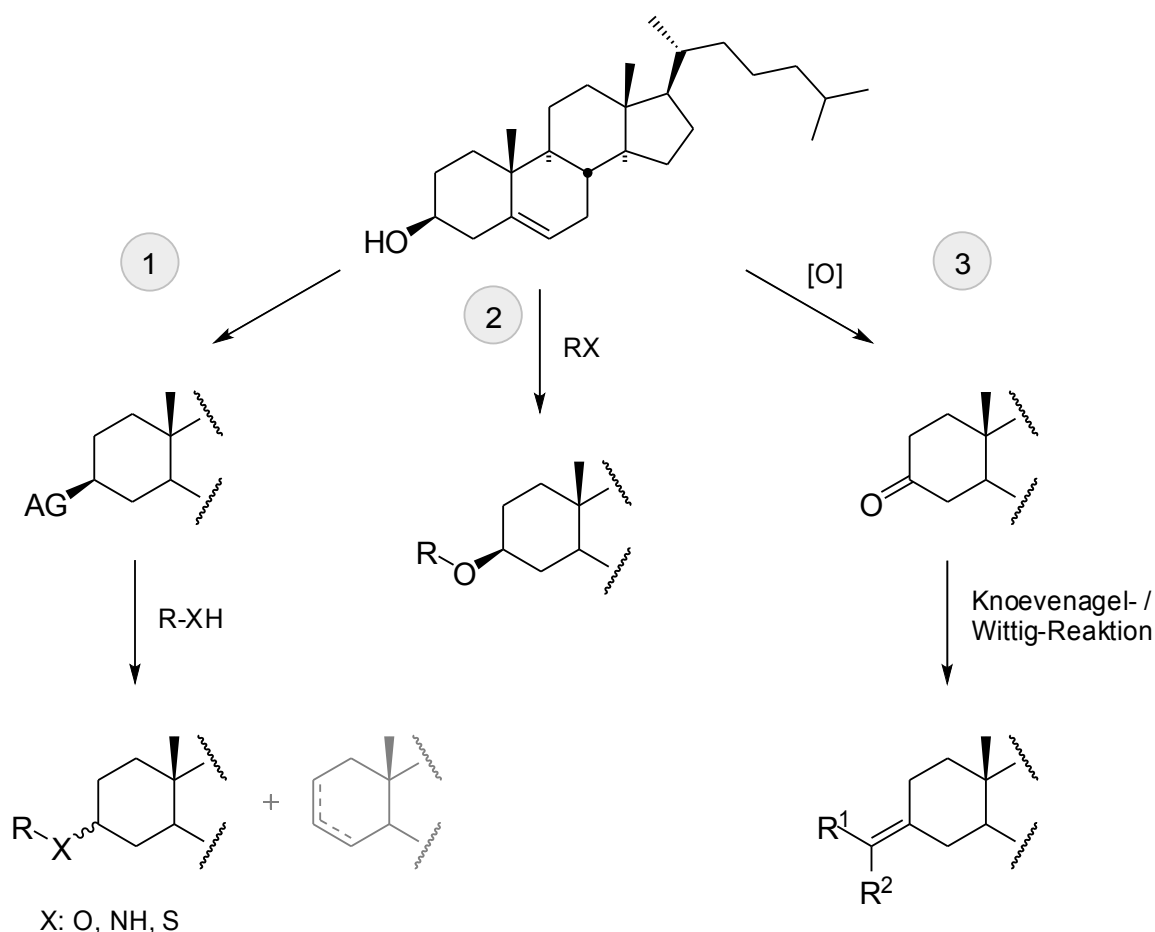
Der zu verwendende Linker muss also über einen Spacer an eine der beiden funktionellen Gruppen des Cholesterols, das dann ausschließlich als Anker fungiert, gebunden werden. Um Nebenreaktionen bei Synthesen an der Festphase auszuschließen und eine optimale Stabilität des Ankers zu gewährleisten, sollte die andere funktionelle Gruppe entfernt oder zumindest dauerhaft geschützt werden.

3.1.2 Synthesestrategie

Für die OH-Gruppe sind eine ganze Reihe von Reaktionen denkbar, über die sich ein Spacer anbinden lässt, ohne dass dabei das Cholesterolgerüst verändert wird (s. Schema 1). Demgegenüber führen Reaktionen an der Doppelbindung meist zur Einführung von zwei funktionellen Gruppen, wobei der Spacer dann an oder neben einem quartären Kohlenstoffatom angebunden würde. Aufgrund der hohen sterischen Hinderung wäre dann ein langer Spacer erforderlich. Durch Spaltung des B-Rings ließen sich zwar sterische Probleme vermeiden, jedoch ginge die rigide Struktur des Ringsystems verloren. Zudem lässt sich die Doppelbindung im Gegensatz zur Alkoholfunktion einfach durch katalytische Hydrierung entfernen.

Von den in Schema 1 dargestellten, möglichen Syntheserouten erschien der S_N-Weg ① am wenigsten erfolgversprechend. Bei dieser Route besteht nicht nur die Gefahr, während der Transformation ein Epimerengemisch zu erhalten, sondern auch die Möglichkeit durch Eliminierung zusätzlich zwei isomere ungesättigte Verbindungen zu generieren. Durch die Verwendung von *N*- oder *S*- statt *O*-Nucleophilen ließe sich die Eliminierung zwar unterdrücken, die Produkte sind jedoch chemisch weniger inert als die bei der Reaktion mit Alkoholen

entstehenden Ether: Thioether können beispielsweise leicht zu Sulfoxiden oxidiert werden, und sekundäre Amine gehen unter anderem unterschiedliche nucleophile Reaktionen wie Substitutionen oder Iminbildung ein. Insgesamt bietet diese Vorgehensweise gegenüber der Alkylierung des Cholesterols mit einem Alkylhalogenid (Route ②) keine Vorteile, zumal durch entsprechende Alkylierung der Spacer in nur einem Reaktionsschritt eingeführt werden kann. Zu beachten ist hierbei allerdings, dass es sich bei Cholesterol um einen sekundären Alkohol handelt, und die daraus resultierende sterische Hinderung eventuell nach höheren Reaktionstemperaturen verlangt. Das eingesetzte Alkylierungsmittel sollte natürlich bifunktional sein, um eine Verwendung als Linker bzw. die Einführung eines Linkers zu ermöglichen.



Schema 1: Mögliche Syntheserouten zur Einführung eines Spacers über die Hydroxylfunktion.

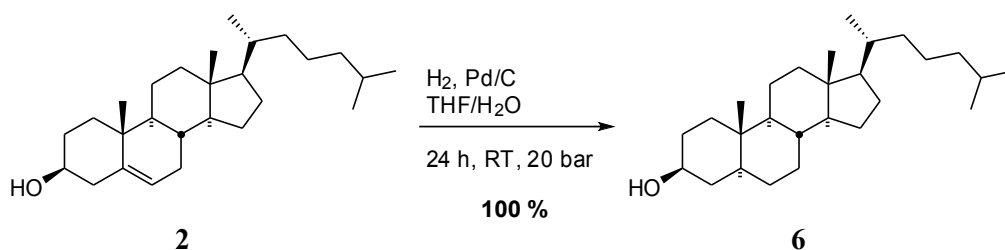
Über C-C-verknüpfende Reaktionen wie z. B. Knoevenagel- oder Wittig-Reaktion (Route ③) lässt sich nach der Oxidation des Cholesterols ein C_2 -Spacer einführen, der aufgrund der C-C-Verknüpfung eine sehr stabile Bindung zum Cholesterol aufweist. Als Nachteil ist hierbei die relativ lange und aufwendige Synthesesequenz zu sehen – inklusive Hydrierung der Doppelbindung sind es

drei Stufen. Bei der Hydrierung besteht zudem die Möglichkeit, dass sich wie bei Route ① ein Epimerengemisch bildet.

3.1.3 Hydrierung

Aufgrund dieser zuvor erläuterten Überlegungen wurden zunächst Versuche zur Alkylierung von 5 γ -Cholestan-3 δ -ol (**6**) durchgeführt. Das 5 γ -Cholestan-3 δ -ol (**6**) wurde aus Cholesterol (**2**) über katalytische Hydrierung erhalten.

Nach E. J. Corey et. al.^[53] wurde Cholesterol (**2**) in Gegenwart von Perchlorsäure diastereoselektiv zu 5 γ -Cholestan-3 δ -ol (**6**) hydriert.



Schema 2: Hydrierung von Cholesterol (**2**).

Coreys Publikation enthält jedoch nur vage Angaben zu Temperatur und Druck („*low pressure apparatus*“), so dass die Hydrierung zunächst bei Raumtemperatur und 20 bar durchgeführt wurde. Erwartungsgemäß wurde Cholesterol (**2**) unter diesen Bedingungen vollständig in die gesättigte Verbindung **6** überführt. Die Perchlorsäure ließ sich nach der Reaktion durch Zugabe von Wasser, Entfernen des THFs im Vakuum und anschließendes Abfiltrieren und Waschen des ausgefallenen Produktes leicht entfernen. Die in der Literatur beschriebene Umkristallisation des Produktes war nicht notwendig. Vielmehr zeigte sich, dass es wichtig ist, auf eine vollständige Umsetzung des Eduktes zu achten, da sich dieses aufgrund der strukturellen Ähnlichkeit nicht vom Produkt trennen lässt. Obwohl die R_f -Werte von Cholesterol (**2**) und 5 γ -Cholestan-3 δ -ol (**6**) identisch sind, ließ sich der Verlauf der Reaktion leicht mittels DC verfolgen, da bei Anwesenheit von Cholesterol (**2**) Fluoreszenzlöschung zu beobachten ist.

Da die technischen Voraussetzungen für Hochdruckchemie nicht überall gegeben sind und diese vor allem bei der Synthese großer Mengen sehr aufwendig ist, wurden Versuche zur Hydrierung bei

Normaldruck unternommen. Es wurden die Katalysatormenge, der Katalysator und die Reaktionsdauer variiert. Die verschiedenen Bedingungen sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

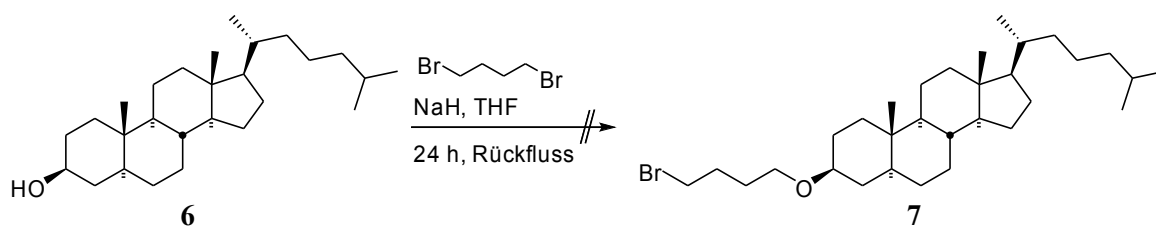
Tabelle 1: Hydrierung von Cholesterol

Katalysator	Reaktionsdauer	Katalysatormenge	Umsatz
Palladium/Kohle (10 %)	24 h (bei 20 bar)	2 % (w/w)	100 %
Palladium/Kohle (10 %)	24 h	10 % (w/w)	< 90 %
	24 h	20 % (w/w)	< 90 %
	48 h	20 % (w/w)	< 90 %
	72 h	20 % (w/w)	< 90 %
Platinoxid (PtO ₂)	24 h	2 % (w/w)	< 90 %
	24 h	5 % (w/w)	< 90 %
	48 h	5 % (w/w)	< 90 %
	108 h	5 % (w/w)	< 90 %

Während bei einem Druck von 20 bar unter Verwendung von 2 % (w/w) Palladium/Kohle (10 %) nach 24 h sowohl im DC als auch im NMR kein Edukt **2** mehr zu erkennen war, wurde bei Normaldruck nie vollständiger Umsatz erreicht.

3.1.4 Alkylierung der Alkoholgruppe

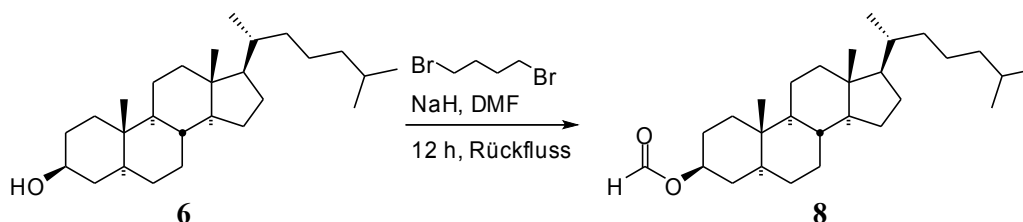
Um eine sterisch gut zugängliche Stelle zur Anbindung von Substraten zu schaffen und so den Einsatz einer großen Bandbreite an Linkern zu ermöglichen, war zunächst die Einführung eines Spacers notwendig. Am einfachsten erschien hier die Alkylierung der OH-Gruppe an C-3. Spacer mit einer Kettenlänge von zwei und drei Kohlenstoffatomen sind nicht für alle Endgruppen stabil, da zum Beispiel Glykolether zur Eliminierung von Vinylalkohol und Propansäure-Derivate zur Eliminierung von Acrylsäure neigen. Aus diesem Grund wurde ein C₄-Körper durch Alkylierung mit 1,4-Dibrombutan zum 3 δ -(4-Brom-1-butyloxy)-5 γ -cholestan (**7**) eingeführt, analog zur Synthese des Acridonankers von A. Porzelle^[48]. Längere Spacer bieten keine Vorteile, erschweren jedoch aufgrund ihres höheren Siedepunktes eine Abtrennung nach der Reaktion.



Schema 3: Umsetzung von Cholestanol (6) mit Dibrombutan in THF.

Die Alkylierung wurde in THF unter Rückfluss mit einem fünffachen Überschuss an 1,4-Dibrombutan und NaH als Base durchgeführt.^[54] Alternativ fand die Umsetzung auch unter Phasentransferbedingungen (THF, 50 prozentige NaOH-Lsg.) statt.^[55] In beiden Fällen war dünnschichtchromatographisch kein Umsatz zu beobachten, was auf die hohe sterische Hinderung der OH-Funktion zurückzuführen ist. Als weiterer Grund ist die geringere Nucleophilie des Sauerstoffs gegenüber dem Stickstoff des Acridons zu sehen.

Um die Reaktionstemperatur erhöhen zu können, war ein Wechsel des Reaktionsmediums notwendig. Aufgrund der relativ guten Löslichkeit des Cholestanol-Alkoholates fiel die Wahl zunächst auf DMF. Nach einigen Stunden unter Rückfluss konnte zwar Umsatz beobachtet werden, als einziges Produkt wurde jedoch Ameisensäure-(5γ-cholestan-3δ-yl)-ester (8) isoliert.

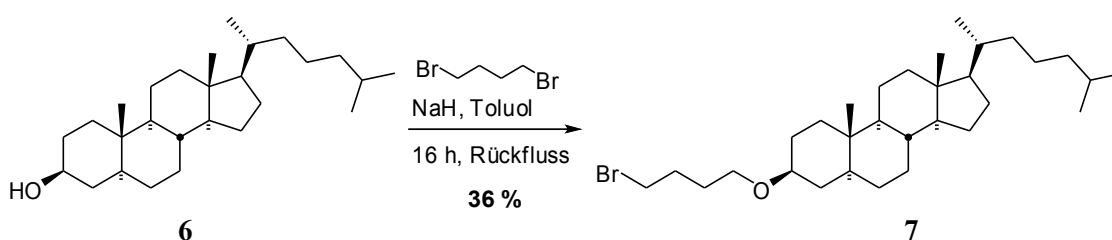


Schema 4: Nebenreaktion bei der Alkylierung in DMF.

Um eine konkurrierende Acylierung durch das Reaktionsmedium auszuschließen, wurden weitere Versuche in Toluol und Xylol durchgeführt, da sie zwar einen ähnlichen Siedepunkt wie DMF aufweisen, unter den Reaktionsbedingungen jedoch chemisch inert sind. Hier gelang unter analogen Bedingungen die Umsetzung zum Produkt 7.

Die Trennung des Ethers 7 von dem im Überschuss eingesetzten Dibrombutan erforderte jedoch einen sehr großen Aufwand und führte zu erheblichen Ausbeuteverlusten. Bedingt durch den hohen Siedepunkt von Dibrombutan war eine Entfernung im Vakuum nur schwer möglich, zumal 3δ-(4-Brom-1-butyloxy)-5γ-cholestan (7) gut in Dibrombutan löslich ist, und letzteres aus dem

verbleibenden öligen Rückstand so gut wie nicht verdampft. Beide Substanzen weisen außerdem ein ähnliches Retentionsverhalten auf, so dass auch durch eine chromatographische Aufreinigung lediglich ein Teil des Dibrombutans entfernt werden konnte. Durch Kombination beider Methoden konnte jedoch genug Dibrombutan entfernt werden, um die Kristallisation eines Teils des Produktes zu erreichen. Auf diese Weise wurde **7** in einer Ausbeute von 36 % isoliert. Für die Herstellung von Mengen im Multigrammmaßstab ist die Aufarbeitung jedoch zu aufwendig und die Ausbeute zu niedrig.



Schema 5: Alkylierung mit Dibrombutan in Toluol.

Um die Notwendigkeit eines hohen Überschusses an Alkylierungsmittel zu umgehen, musste ein Alkylierungsmittel gewählt werden, das zwar bifunktional ist, jedoch nur mit einer der beiden Funktionen mit dem Cholestanol (**6**) reagiert, so dass das Reagenz in äquimolaren Verhältnissen eingesetzt werden kann. Zur besseren Abtrennung nach der Reaktion wäre ein größerer Polaritätsunterschied zum Produkt **7**, als dies bei 1,4-Dibrombutan der Fall ist, oder ein niedrigerer Siedepunkt wünschenswert. Prinzipiell kommen dafür terminale Alkylbromide wie

- 5-Brom-1-penten,
- 1-Brom-4-butanol,
- 4-Brombutanäureethylester oder
- 4-Brombutansäurenitril

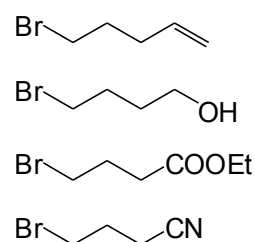
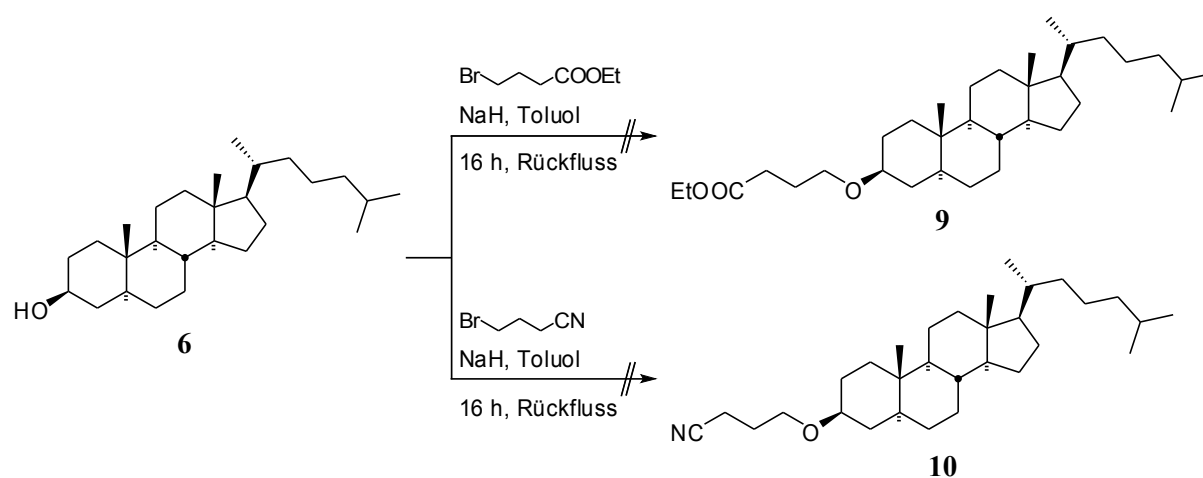


Abb. 12: Alternative Alkylierungsmittel.

in Frage. 5-Brom-1-penten ist aus chemischer Sicht sicherlich die beste Alternative, da die Doppelbindung an der Alkylierungsreaktion nicht teilnimmt, aber leicht in andere funktionelle Gruppen umgewandelt werden kann (z. B. durch Ozonolyse). Dem gegenüber steht der hohe Preis von 5-Brom-1-penten und dessen höheren oder niederen Homologen (etwa 13 €/g), so dass es vor allem für Reaktionen in großem Maßstab ungeeignet erscheint. 1-Brom-4-butanol ist ähnlich teuer wie 5-Brom-1-penten (etwa 10 €/g), außerdem sind bei dessen Verwendung Schutzgruppenoperationen notwendig, die den

Syntheseaufwand zusätzlich erhöhen. 4-Brombutansäureethylester und 4-Brombutansäurenitril sind ebenfalls kommerziell erhältlich und deutlich günstiger als 1-Brom-4-butanol und 5-Brom-1-penten. Dementsprechend kamen sie als Alternativen zu Dibrombutan zum Einsatz. Beim 4-Brombuttersäureethylester ist zwar die Umesterung als mögliche Nebenreaktion denkbar, allerdings wurde der Ester schon erfolgreich zur Alkylierung von Acridon eingesetzt^[54]. Analog zur Alkylierung mit Dibrombutan wurden die Reaktionen in Toluol unter Rückfluss mit NaH als Base durchgeführt. Das DC zeigte in beiden Fällen ein komplexes Produktgemisch, das auch chromatographisch nicht getrennt werden konnte.



Schema 6: Alkylierung von Cholestanol (6) mit 4-Brombuttersäureethylester und 4-Brombuttersäurenitril.

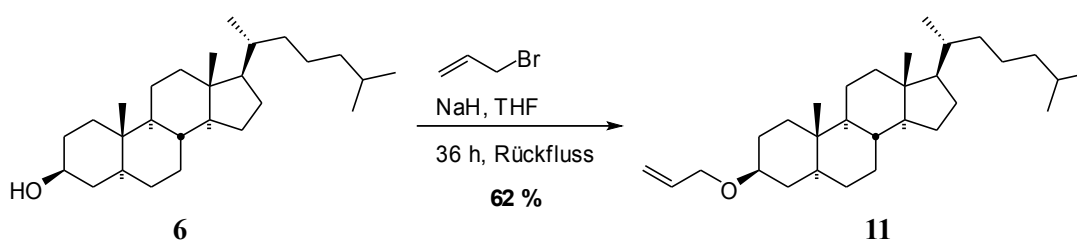
Um eine Hydrolyse des Esters bzw. des Nitrils als mögliche Nebenreaktion auszuschließen, wurden weitere Reaktionsbedingungen untersucht. Hierzu wurde Cholestanol (6) mit allen drei Alkylierungsmitteln in DMF unter verschiedenen Reaktionsbedingungen und mit unterschiedlichen Mediatoren umgesetzt. Die Verwendung von K_2CO_3 ^[56] brachte keinerlei Verbesserung, auch hier entstand ein komplexes Produktgemisch. Da auch bei diesem Vorgang die zu alkylierende OH-Gruppe durch die Base aktiviert wird, ist eine Reaktion mit dem Ester bzw. mit dem Nitril des Alkylierungsmittels denkbar. Zudem kann die schon zuvor beobachtete Formylierung der OH-Gruppe auftreten. Im Gegensatz zu NaH und K_2CO_3 aktiviert Ag_2O ^[57] das Elektrophil durch Abspaltung des Bromids, wodurch sich die Nebenreaktionen unter Umständen unterdrücken lassen. Dünnschichtchromatographisch war jedoch keinerlei Reaktion zu beobachten.

Die verschiedenen Bedingungen unter denen die Alkylierung durchgeführt wurde, sind in Tabelle 2 noch einmal zusammengefasst.

Tabelle 2: 3-Alkylierung von Cholestanol

Alkylierungsreagenz	Base	Lösungsmittel	Produkt
Dibrombutan	NaH	THF	k. R.
	50 % NaOH	THF	k. R.
	NaH	DMF	Formylierung zu 8
	NaH	Toluol	gewünschtes Produkt 7
	Ag ₂ O	DMF	k. R.
4-Brombuttersäureethylester	NaH	Toluol	komplexes Gemisch
	K ₂ CO ₃	DMF	komplexes Gemisch
	Ag ₂ O	DMF	k. R.
4-Brombuttersäurenitril	NaH	Toluol	komplexes Gemisch
	K ₂ CO ₃	DMF	komplexes Gemisch
	Ag ₂ O	DMF	k. R.

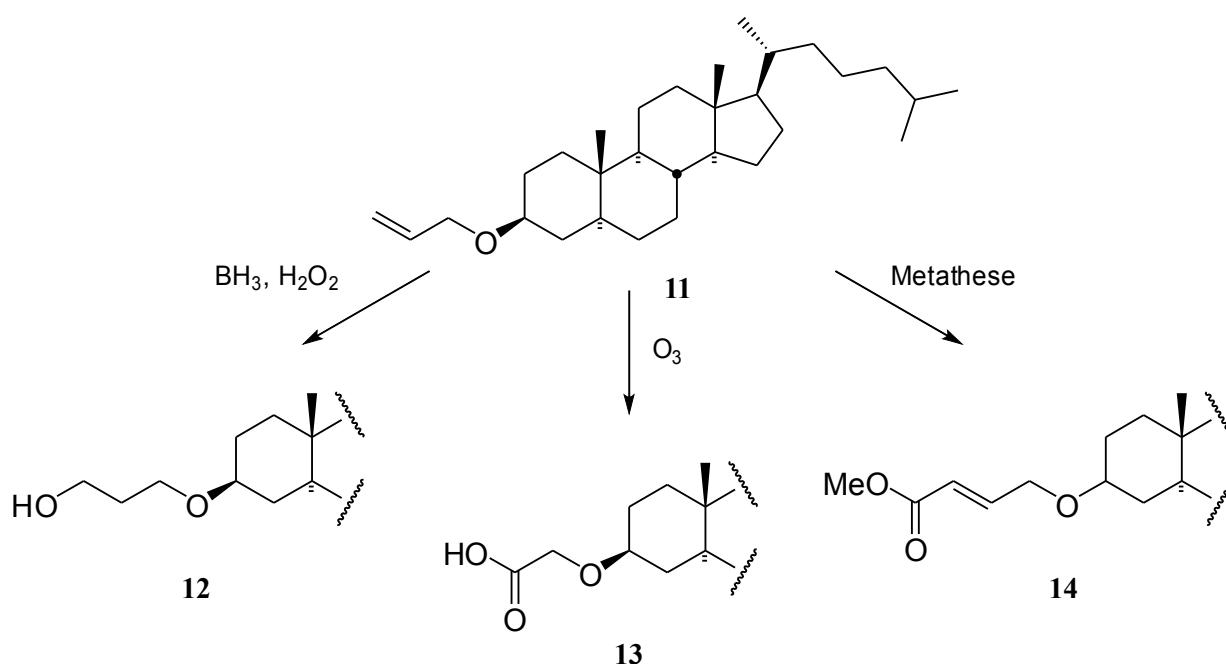
Um die Reaktivität bezüglich Alkylierungen weiter zu untersuchen, wurden Experimente mit Allylbromid als Alkylierungsreagenz durchgeführt. Durch den Einsatz eines aktivierten Alkylierungsmittels sollten sich höhere Umsätze bei mildereren Reaktionsbedingungen erzielen lassen. Tatsächlich konnte in THF unter Rückfluss und mit NaH als Base das gewünschte 3 δ -Allyloxy-5 γ -cholestan (**11**) bei vollständigem Umsatz in einer Ausbeute von 62 % isoliert werden.

Schema 7: Allylierung von Cholestanol (**6**).

Aufgrund der Flüchtigkeit des Allylbromids wurde dieses im Laufe der Reaktion mehrmals zudosiert. Ein vollständiger Umsatz konnte dennoch nicht erreicht werden. Der Umsatz sowie die Reaktionszeit lassen sich noch weiter optimieren, z. B. indem man die Reaktion unter Druck in einem Autoklaven durchführt und so das Verdampfen des Allylbromids verhindert oder zumindest einschränkt.

Für die Verwendung als Anker in Festphasensynthesen sind der Allylether **11** und dessen Folgeprodukte nur bedingt geeignet. Der Allylether selbst besitzt keine funktionelle Gruppe, die

sinnvoll direkt als Linker einsetzbar ist. Eine Umwandlung zu geeigneten Verbindungen ist aber gut durchführbar (s. Schema 8). Durch Hydroborierung und anschließende Oxidation lässt sich etwa 3 δ -(3-Hydroxy-1-propyloxy)-5 γ -cholestan (**12**) synthetisieren, wobei der C₃-Körper des Allylbromids erhalten bleibt. Bei Hydroborierung mit BH₃ könnte allerdings auch das Regioisomere entstehen, so dass unter Umständen auf teurere, sterisch gehinderte Borhydride wie 9-BBN zurückgegriffen werden müsste. Eine andere Möglichkeit zur Einführung sauerstoffhaltiger funktioneller Gruppen ist die oxidative Spaltung der Doppelbindung mit Ozon, wobei man Verbindungen wie die 5 γ -Cholestan-6 δ -yloxy-essigsäure (**13**) erhält.

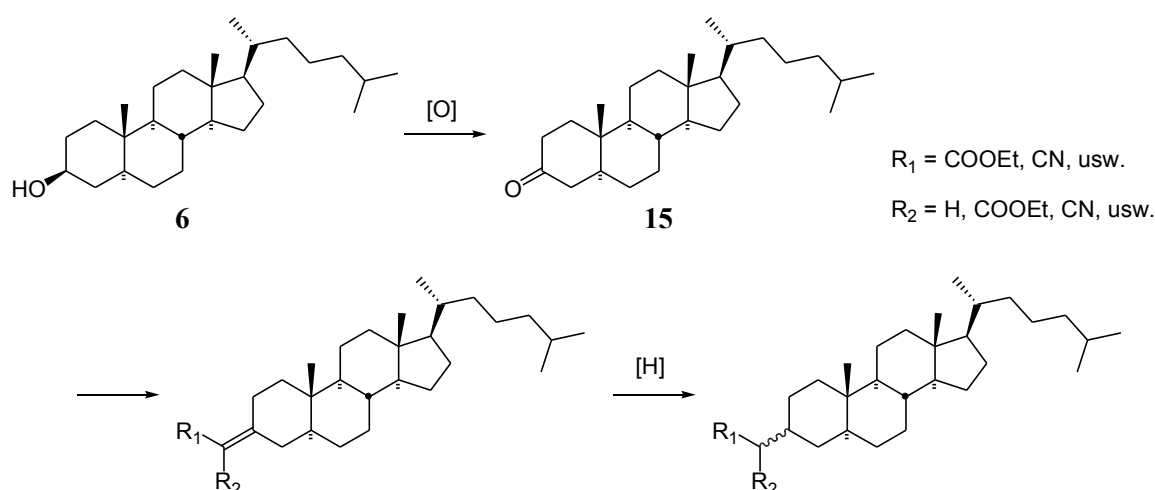


Schema 8: Denkbare Folgechemie des Allylethers **11**.

Wie bereits erwähnt, weisen sowohl der C₂- als auch der C₃-Spacer den Nachteil auf, dass sie nicht für alle Endgruppen stabil sind. Oxidiert man beispielsweise den Alkohol **12** zur entsprechenden Carbonsäure, neigt diese zur Eliminierung von Acrylsäure. Ebenso kann der Glykolether, der aus dem Essigsäurederivat **13** durch Reduktion erhalten wird, Vinylalkohol bzw. Acetaldehyd eliminieren. Wesentlich besser zur Synthese eines universell einsetzbaren Spacers geeignet erscheint eine Alkenmetathese z. B. mit Acrylsäuremethylester zu 4-(5 γ -Cholestan-3 δ -yloxy)-2-butensäuremethylester (**14**). Hierfür müssen jedoch hochpreisige Metathese-Katalysatoren eingesetzt werden, was der Forderung nach einer kostengünstigen Synthese widerspricht. Aufgrund dieser Überlegungen wurde die Folgechemie des Allylethers **11** nicht weiter verfolgt.

3.1.5 Oxidation

Als Alternative zur Alkylierung der OH-Gruppe wurden C-C-Verknüpfungsreaktionen mit 5 γ -Cholestan-3-on (**15**) untersucht. Besonders geeignet erschienen hier Knoevenagel-Reaktionen mit Malonsäurederivaten und Wittig- oder Wittig-Horner-Reaktionen, da man hier keinen tertiären Alkohol, sondern eine ungesättigte Verbindung erhält. Die Doppelbindung ließe sich dann nach Standardprotokollen hydrieren (s. Schema 9).



Schema 9: Alternative Route zur Synthese eines Cholesterolankers über C-C-Verknüpfungsreaktionen.

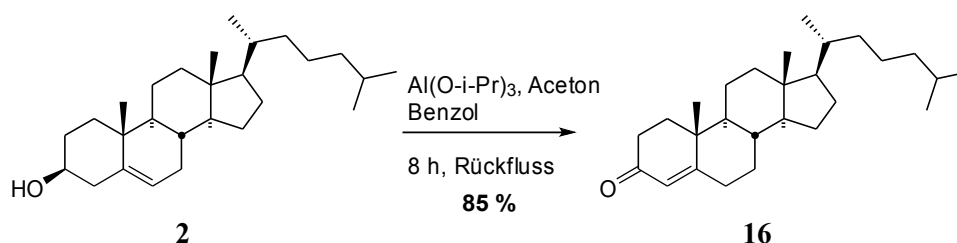
Zunächst wurde die Eignung verschiedener Oxidationsmittel zur Oxidation des Cholestanols (**6**) zu 5 γ -Cholestan-3-on (**15**) untersucht und die entsprechenden Reaktionen hinsichtlich Durchführbarkeit, Ausbeute und Qualität der Produkte bewertet. Der Vergleich umfasste die selektiven Oxidationsmittel

- Pyridiniumdichromat (PDC)^[58,59]
- Aluminiumtriisopropylat (Oppenaueroxidation)^[60,61]
- Calciumhypochlorit^[62]
- Ammoniumcer(IV)-nitrat und Kaliumbromat^[63,64]

Mit PDC in Dichlormethan ließ sich Cholestanol (**6**) sehr gut in Ausbeuten größer 80 % zu 5 γ -Cholestan-3-on (**15**) oxidieren. Nebenreaktionen traten erwartungsgemäß nicht auf, zumal Überoxidation bei einem sekundären Alkohol nicht zu erwarten ist. Probleme bereitete teilweise die

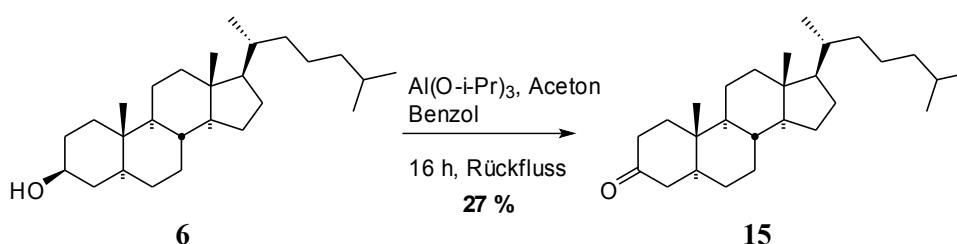
Abtrennung des Oxidationsmittels vom Produkt nach der Reaktion. Durch einfache Filtration über Kieselgel oder Kieselgur konnten Verunreinigungen durch das Oxidationsmittel vollständig beseitigt werden. Obwohl die Oxidation mit PDC sehr gute Ergebnisse lieferte, wurde nach einer Alternative gesucht, vor allem um den Einsatz stöchiometrischer Mengen giftiger Schwermetalle wie Chrom vermeiden zu können.

Cholesterol (**2**) wird standardmäßig über eine Oppenauer-Oxidation zum Cholest-4-en-3-on (**16**) oxidiert,^[60,61] wobei – bis auf Benzol, das sich vermutlich durch Toluol ersetzen lässt – wenig toxische und preisgünstige Chemikalien verwendet werden. Die Reaktion wurde zunächst mit Cholesterol (**2**) durchgeführt, was die in der Literatur beschriebene einfache Reaktionsführung sowie die guten Ausbeuten bestätigte.



Schema 10: Cholesteroolxidation nach Oppenauer.

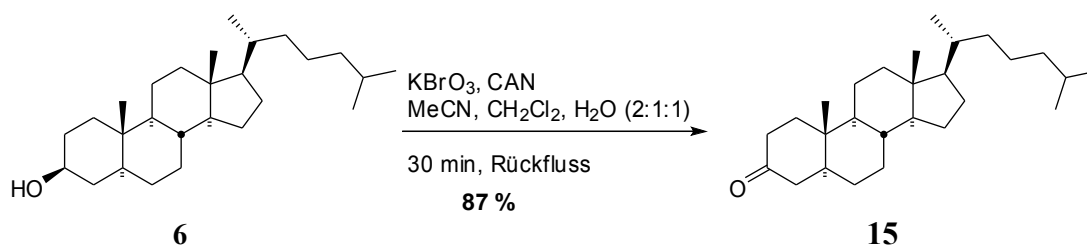
Mit 5 γ -Cholestan-3 δ -ol (**6**) lieferte die Oppenauer-Oxidation wesentlich schlechtere Ausbeuten. Auch bei einer Erhöhung der Reaktionszeit sowie der Menge an Aceton (75-facher Überschuss) und Aluminiumtriisopropylat (zweifacher Überschuss) konnte Umsatz und Ausbeute nicht über 27 % gesteigert werden. Dies ist auf eine thermodynamisch ungünstigere Lage des Gleichgewichtes zurückzuführen. Mit Cholest-4-en-3-on (**16**) wird eine γ,δ -ungesättigte Carbonylverbindung gebildet, die aufgrund der Konjugation eine zusätzliche Stabilisierung erfährt. Daher ist die Bildung von **16** günstiger als die Rückreaktion, da hierbei das konjugierte System aufgehoben würde. Bei 5 γ -Cholestan-3-on (**15**) kommt es nicht zur Ausbildung eines konjugierten Systems, wodurch eine Bevorzugung der Hinreaktion nicht mehr gegeben ist.



Schema 11: Oxidation von 5 γ -Cholestan-3 δ -ol (**6**) nach Oppenauer.

M. Schneider et al.^[62] verwendeten zur Oxidation sekundärer Alkohole mit Hypochlorid beladenen Ionentauscher und überführten Cyclohexanol mit einer Ausbeute von 85 % in die entsprechende Ketoverbindung. Die Reaktion wird bei sehr milden Bedingungen (Raumtemperatur) durchgeführt und dauert lediglich 3 h. Zur Aufarbeitung muss lediglich der Ionentauscher abfiltriert werden. Bei der Oxidation von Cholestanol (**6**) konnte jedoch keinerlei Umsatz beobachtet werden. Ausschlaggebend könnte die sterische Hinderung des im Vergleich zum Cyclohexanol starren Cholestanols sein, so dass hierbei eine Reaktion mit dem an den Ionentauscher gebundenen Hypochlorit nicht stattfinden kann.

Wie von H. Tomioka et al.^[63,64] beschrieben, kann auch Kaliumbromat mit Ammoniumcer(IV)-nitrat (CAN) als Katalysator zur Oxidation sekundärer Alkohole eingesetzt werden. Cholestanon (**15**) wird mit einer Ausbeute von 97 % bei einer Reaktionsdauer von nur 30 min erhalten. Auch bei dieser Variante werden preiswerte Reagenzien verwendet. Das Schwermetall Cer wird nur in katalytischen Mengen von 3.5 bis 10 mol-% benötigt. Die Methode erwies sich als beste Alternative zur Oxidation mit PDC, auch wenn die Ausbeute mit 87 % geringer als in der Literatur beschrieben ausfiel. Die Ausbeuteverluste sind hauptsächlich auf Komplikationen zurückzuführen, die beim Vergrößern der Ansätze von 2 mmol auf 100 mmol auftraten. Vor allem die Abtrennung des bei der Reaktion entstehenden Broms erwies sich als schwierig. Ein Großteil ließ sich zwar mit dem Lösungsmittel abdestillieren, zur weiteren Reinigung war jedoch die Kristallisation des Produktes **15** notwendig. Aus der von Oppenauer^[61] zur Kristallisation von 5 γ -Cholest-4-en-3-on (**16**) verwendeten Mischung aus Aceton und Methanol (70:100) schied sich das 5 γ -Cholestan-3-on (**15**) meistens als Öl ab, ein Problem, das auch bei anderen Cholesterolderivaten auftrat. Aus reinem Aceton ließ sich 5 γ -Cholestan-3-on (**15**) jedoch sehr gut und in hoher Reinheit kristallisieren.



Schema 12: Oxidation von 5 γ -Cholestan-3 δ -ol (**6**) mit KBrO₃ und CAN.

Von den untersuchten Oxidationsmitteln zur Synthese von 5 γ -Cholestan-3-on (**15**) aus Cholestanol (**6**) eignen sich besonders PDC bzw. Kaliumbromat mit Ammoniumcer(IV)-nitrat als Katalysator. Die Durchführung der Reaktion ist bei der Verwendung von PDC etwas einfacher, da das für die

Oxidation mit Kaliumbromat/Ammoniumcer(IV)-nitrat verwendete Lösungsmittelgemisch (Acetonitril, Dichlormethan, Wasser 2:1:1) bei Raumtemperatur zwei Phasen aufweist, in dem sich das Edukt erst beim Erhitzen löst. Die Aufarbeitung ist bei beiden Methoden aufwendig, da sich die verwendeten Oxidationsmittel bzw. deren Folgeprodukte nicht einfach abtrennen lassen. Für die Verwendung von Kaliumbromat/Ammoniumcer(IV)-nitrat spricht vor allem der geringere Anteil an giftigen Schwermetallen sowie die sehr kurze Reaktionszeit von lediglich zwei Stunden. Die Ergebnisse der Oxidation von Cholestanol (**6**) sind in Tabelle 3 nochmals zusammengefasst.

Tabelle 3: Oxidation von Cholestanol.

Oxidationsmittel	Reaktionszeit [h]	Ausbeute [%]
Pyridiniumdichromat (PDC)	16	80
Oppenaueroxidation ($\text{Al}(\text{O-i-Pr})_3$ + Aceton)	16	27
$\text{Ca}(\text{OCl})_2$ auf Ionentauscher	24	kein Umsatz
Ammoniumcer(IV)-nitrat + Kaliumbromat	2	87

3.1.6 C-C-Verknüpfungsreaktionen an 5 α -Cholestan-3-on (**15**)

5 α -Cholestan-3-on (**15**) wurde mit verschiedenen Malonsäurederivaten in Knoevenagel-Reaktionen sowie in einer Wittig-Horner-Reaktion mit Diethylphosphonoessigsäureethylester umgesetzt. Von besonderem Interesse war die Wittig-Horner-Reaktion, da hier im Gegensatz zu den Knoevenagel-Reaktionen keine anschließende Decarboxylierung notwendig ist.

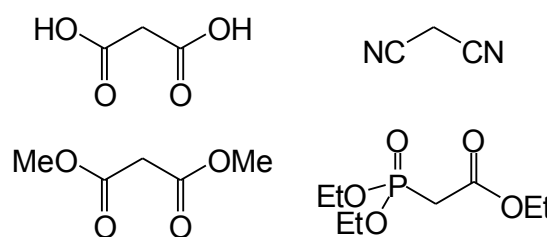
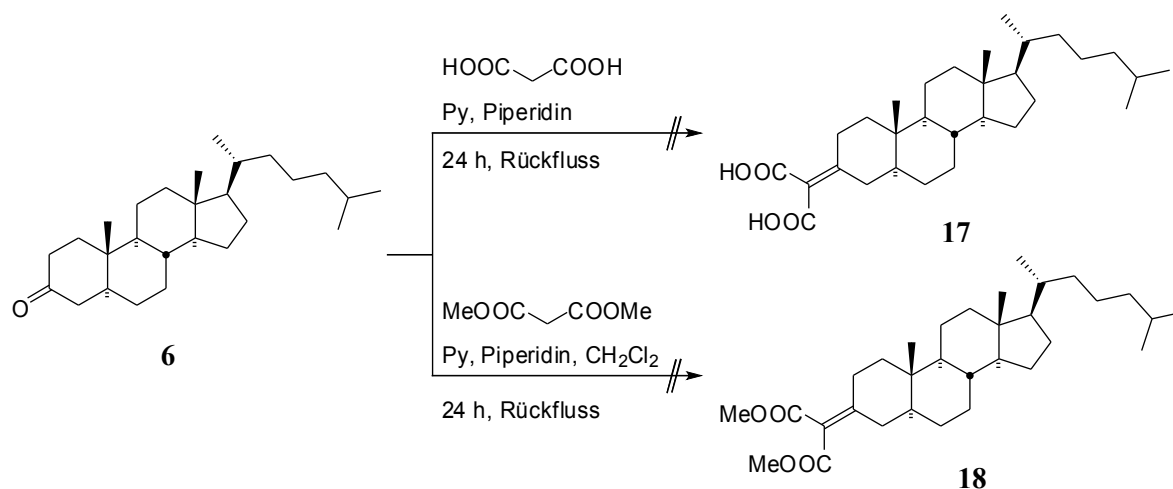


Abb. 13: gängige CH-azide Reagenzien für C-C-Verknüpfungsreaktionen.

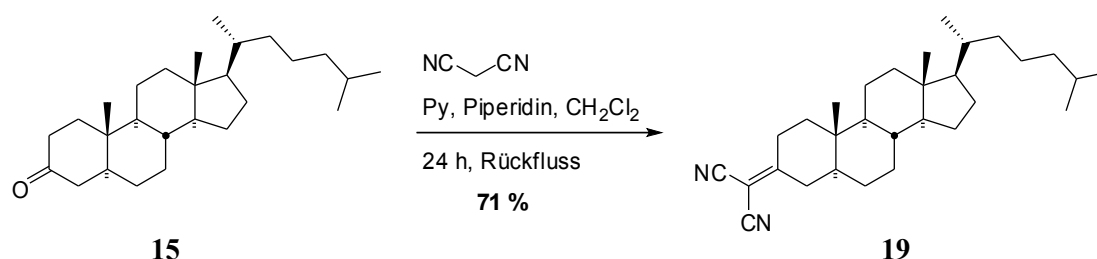
Als Methylenkomponente für die Knoevenagel-Reaktion wurde zunächst Malonsäure sowie deren Dimethylester eingesetzt. Die Reaktion mit Malonsäure erfolgte nach der Variante von Doebner.^[65] In analoger Weise, jedoch im Lösungsmittel Dichlormethan, fand die Umsetzung mit Malonsäuredimethylester statt. Beide Reaktionen zeigten auch nach 24 h unter Rückfluss keinen Umsatz, was bei der Reaktion in Dichlormethan sicherlich auf die zu niedrige Temperatur zurückzuführen ist. Da auch in Pyridin keine Produktbildung zu beobachten war, ist anzunehmen, dass die Verwendung eines höher siedenden Lösungsmittels allein nicht ausreicht. Reaktionsträge Carbonylverbindungen können zwar durch Zusatz von Titan-tetrachlorid^[66,67] oder Ruthenium-

katalysatoren^[68,69] umgesetzt werden, diese Verbindungen sind aber sehr teuer und lassen sich zum Teil auch nicht zurückgewinnen, da sie verbraucht werden.



Schema 13: Knoevenagel Reaktionen.

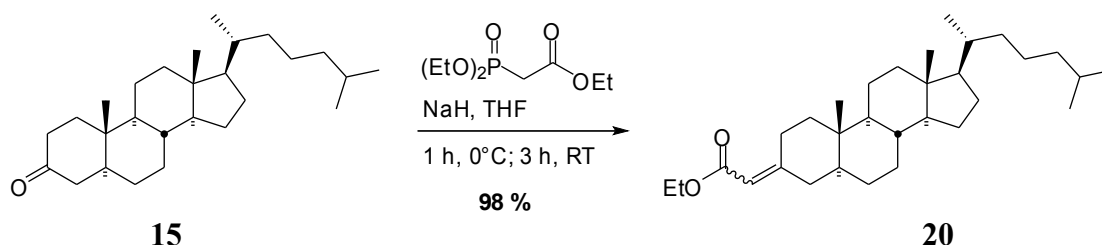
Aus diesem Grund wurde Malonsäuredinitril als reaktivere Methylenkomponente eingesetzt. Unter den gleichen Reaktionsbedingungen wie zuvor mit Malonsäuredimethylester konnte nach 24 h (5 γ -Cholestan-3-yliden)-malonsäure-dinitril (**19**) in einer Ausbeute von 71 % isoliert werden. Durch weitere Optimierung lässt sich die Ausbeute sicherlich weiter steigern, so dass auf eine chromatographische Aufarbeitung verzichtet werden kann. Allerdings ist in jedem Fall noch die Verseifung der Nitrilgruppen sowie eine Decarboxylierung notwendig.



Schema 14: Knoevenagelreaktion an 5 γ -Cholestan-3-on (**15**) mit Malonsäuredinitril.

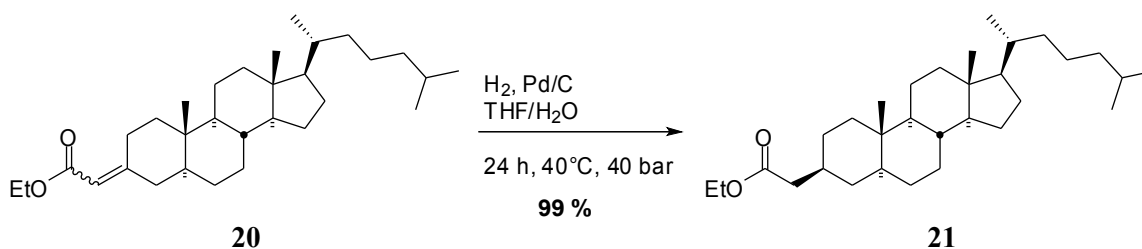
Als Alternative zur Knoevenagel-Reaktion wurde 5 γ -Cholestan-3-on (**15**) mit Diethylphosphonoessigsäureethylester in einer Wittig-Horner-Reaktion analog zu einer Vorschrift von A. K. Bose et al.^[70] mit Natriumethanolat in CH_2Cl_2 /DMF umgesetzt. Das Rohprodukt musste vor der weiteren Verwendung weiter aufgereinigt werden, da es eine intensive gelbe Färbung aufwies und auch kernresonanzspektroskopisch noch Verunreinigungen zu erkennen waren. Nach der Kristallisation

aus Aceton/Wasser wurde (5 γ -Cholestan-3-yliden)-essigsäure-ethylester (**20**) als Gemisch der *E/Z*-Isomeren (etwa 1:1) in Ausbeuten von 50 bis 60 % erhalten. Die Verunreinigungen sind auf die Verwendung von Natriumethanolat und DMF zurückzuführen. Entsprechend wurde in Anlehnung an eine Vorschrift von W. M. Golebiewski et al.^[71] statt CH₂Cl₂/DMF als Lösungsmittel THF verwendet. Außerdem kam als Ersatz für Natriumethanolat Natriumhydrid zum Einsatz. Hierdurch ließ sich nicht nur die Ausbeute auf 98 % steigern, sondern auch die Reaktionszeit von 24 h auf 4 h verkürzen. Eine weitere Reinigung des Produktes **20** war nicht notwendig. Bei höheren Ansprüchen an die Reinheit kann es wie zuvor beschrieben aus Aceton oder Aceton/Wasser umkristallisiert werden.



Schema 15: Synthese von (5 γ -Cholestan-3-yliden)-essigsäure-ethylester (**20**) über eine Wittig-Horner-Reaktion.

Die Hydrierung von (5 γ -Cholestan-3-yliden)-essigsäure-ethylester (**20**) wurde analog zur Hydrierung von Cholesterol (**2**) mit Pd/C als Katalysator in wässrigem THF durchgeführt. Um vollständigen Umsatz zu gewährleisten, musste die Temperatur auf 40 °C und der Druck auf 40 bar erhöht werden. Als Produkt wurde ausschließlich (5 γ -Cholestan-3 δ -yl)-essigsäure-ethylester (**21**) erhalten. Bei der Verwendung von Platin(IV)-oxid statt Pd/C als Katalysator konnte im NMR die Bildung des 3 γ -Epimeren beobachtet werden. In diesem Fall wurden beide Epimere als Gemisch im Verhältnis δ : γ = 4:1 erhalten.



Schema 16: Hydrierung von (5 γ -Cholestan-3-yliden)-essigsäure-ethylester (**20**).

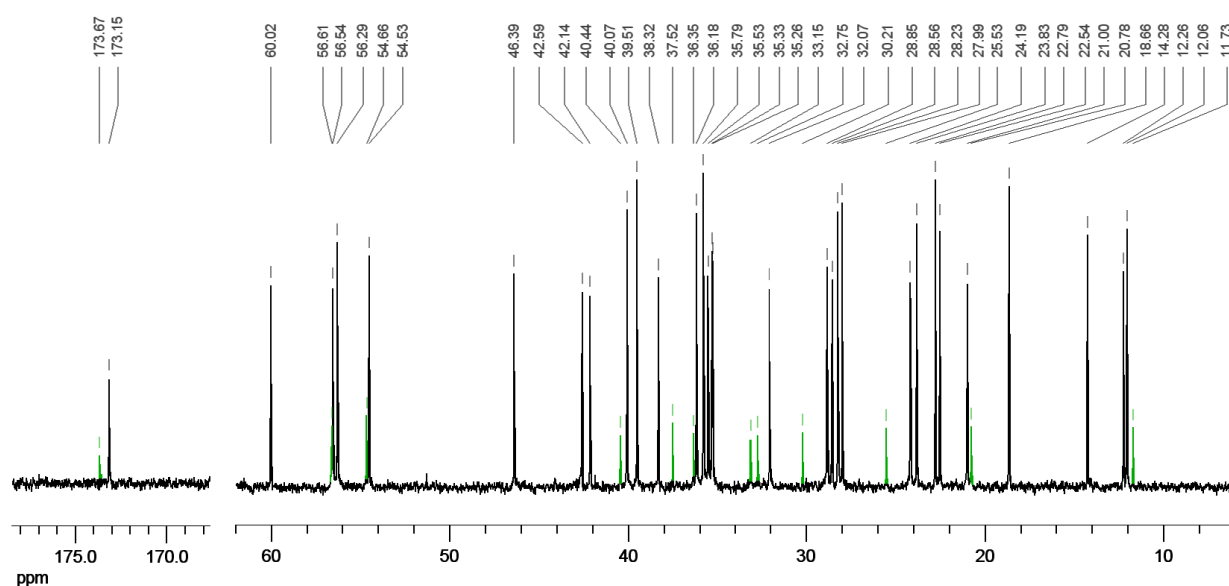


Abb. 14: ^{13}C -NMR des Epimerengemisches von (5 γ -Cholestan-3 γ ,3 δ)-essigsäure-ethylester (schwarz: γ -Epimer, grün: δ -Epimer).

3.1.7 Zusammenfassung

Über die zunächst favorisierte Alkylierung von Cholesterol konnte zwar ein Spacer eingeführt werden, die Reaktion ließ sich jedoch vor allem aufgrund einer sehr aufwendigen Aufarbeitung nicht effizient durchführen. Der bei Verwendung von Dibrombutan erhaltene Bromalkyllinker lässt sich zudem nur mit erheblichem Aufwand in andere Linkergruppierungen wie zum Beispiel Carbonsäuren umwandeln. Bei Alkylierungen mit anderen bifunktionalen Reagenzien konnte das jeweils gewünschte Produkt nicht erhalten werden.

Über den Umweg der Oxidation zu 5 γ -Cholestan-3-on (**15**) gelang die Einführung des Spacers in einer insgesamt vierstufigen Synthesesequenz. Durch Optimierung der einzelnen Stufen konnte nicht nur die Ausbeute auf insgesamt 84 % gesteigert werden, auch die Kosteneffizienz wurde durch Verringerung der einzusetzenden Überschüsse an Reagenzien deutlich verbessert. So ließ sich die gesamte Synthesesequenz im 100-g-Maßstab durchführen. Apparatebedingt konnten die Hydrierungen nicht in diesem Maßstab durchgeführt werden. Die Umsetzung der entsprechenden Produkte erfolgte in Chargen zu je 40 g.

3.2 Cholsäuren

3.2.1 Struktur der Cholsäuren

Vertreter der Cholsäuren^[51,72], vor allem die Cholsäure selbst (3 γ ,7 γ ,12 γ -Trihydroxy-5 δ -cholansäure), Desoxycholsäure (3 γ ,12 γ -Dihydroxy-5 δ -cholansäure) und Chenodesoxycholsäure (3 γ ,7 γ -Dihydroxy-5 δ -cholansäure), kommen in allen höheren Säugern vor. Ihre Biosynthese erfolgt hauptsächlich in der Leber aus Cholesterol. Von dort werden sie als Konjugate mit Taurin oder Glycin in die Gallenblase abgegeben. In erster Linie dienen sie physiologisch als Emulgatoren bei der Verdauung von Fetten und anderen fettlöslichen Substanzen (z. B. Vitamin E). Desoxycholsäure wurde erstmals Anfang des 20. Jahrhunderts aus Rindergalle isoliert, woraus sie auch heute noch technisch gewonnen wird. Die mehrfache Funktionalisierung der Cholsäuren bietet die Möglichkeit, Ester mit sich selbst zu bilden, und so Ringe^[73,74] oder Polymere^[75] aufzubauen. Aktuell wird auch eine mögliche entzündungshemmende Wirkung von Desoxycholsäure untersucht.^[76]

Die mit dem Cholesterol strukturell eng verwandten Cholsäuren besitzen mit der Carbonsäurefunktion an C-24 bereits eine funktionelle Gruppe, die vielfältige Möglichkeiten zur Funktionalisierung als Linker bietet (s. Abb. 15). Durch ihre terminale Anordnung ist sie zudem weit genug vom Grundgerüst entfernt, so dass sterische Wechselwirkungen weitgehend minimiert werden.

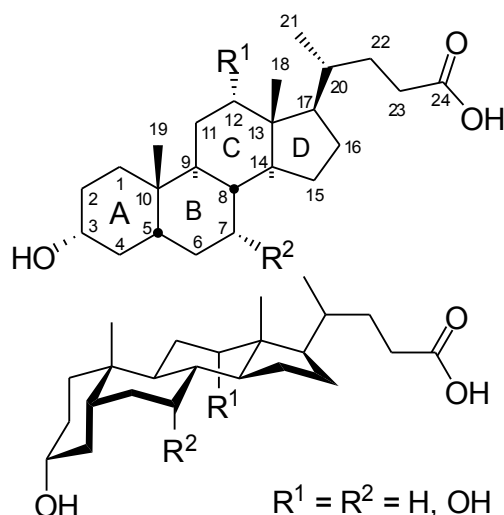


Abb. 15: Cholsäuren: Cholsäure (3, $R^1=R^2=\text{OH}$),
Desoxycholsäure (4, $R^1=\text{OH}$, $R^2=\text{H}$),
Lithocholsäure (5, $R^1=R^2=\text{H}$).

Dem Prinzip maximaler hydrophober Wechselwirkung entgegen wirken die beiden sekundären Alkoholgruppen an C-3 und C-12. Diese erhöhen nicht nur die Polarität und üben damit einen negativen Einfluss auf die Bindung zur Festphase aus, sie können auch zu Nebenreaktionen führen. Beide OH-Gruppen müssen also entweder entfernt oder zumindest dauerhaft geschützt werden.

3.2.2 Synthesestrategie

Zur Synthese des Ankers kamen prinzipiell alle drei Cholsäuren in Frage. Da Desoxycholsäure nicht nur eine Hydroxylfunktion weniger aufweist als Cholsäure, sondern auch kostengünstiger ist, wurde sie bevorzugt als Ausgangsmaterial verwendet. Lithocholsäure kam wegen ihres über fünfmal höheren Preises nicht in Frage.

Die OH-Gruppen können dauerhaft zum Beispiel in Form von wenig reaktiven Methylethern maskiert werden. Diese Vorgehensweise benötigt keine schwer erhältlichen oder teuren Chemikalien, lediglich eine Base wie Kaliumcarbonat oder Natriumhydrid sowie z. B. Methyljodid als Methylierungsmittel sind erforderlich.

Eine vollständige Entfernung der Alkoholgruppen kann über Eliminierung, im einfachsten Fall mit Schwefelsäure, und anschließende Hydrierung der ungesättigten Verbindung erfolgen. Im Fall der Desoxycholsäure besteht dabei nicht die Gefahr, ein Diastereomerengemisch zu erhalten, da keine Wasserstoffe an Stereozentren eliminiert werden. Hydroxylfunktionen können auch mit Hilfe der Barton-McCombie-Reaktion nach Umwandlung in ihre Phenylthiocarbonate mit Tributylstannan radikalisch reduziert werden.^[77] Die Ausbeuten liegen hier meist bei über 70 %. Das relativ teure und außerdem sehr giftige Tributylstannan kann auch in katalytischen Mengen eingesetzt werden, wobei Poly(methylhydridosiloxan) (PMHS) als Hydridquelle zum Einsatz kommt. Das teurere Phenylchlorthionocarbonat (75 € für 5 g) muss in stöchiometrischen Mengen eingesetzt werden. Alternativ ist auch die Reduktion der Essigsäureester mit Na/K-Legierung in Gegenwart von tertiären Aminen möglich.^[78] Hier werden Ausbeuten zwischen 50 und 60 % erreicht.

Durch Oxidation der Alkohole zu den entsprechenden Ketoverbindungen oder Verwendung der kommerziell erhältlichen Dehydrocholsäure (**22**) als Ausgangsmaterial ergeben sich weitere Möglichkeiten zur vollständigen Entfernung der funktionellen Gruppen. Die Reduktion kann in saurem Milieu mit Zinkamalgam und Salzsäure

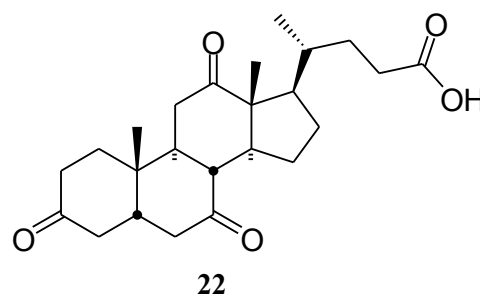
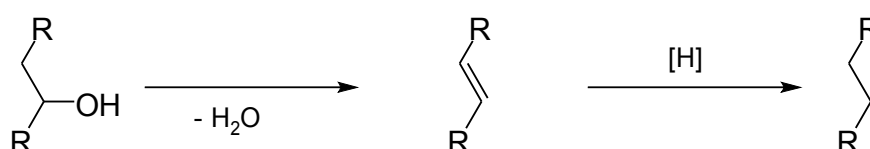


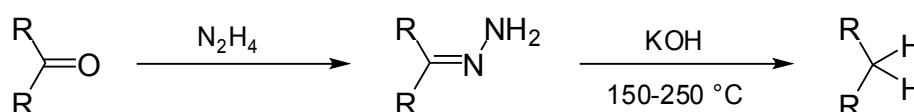
Abb. 16: Dehydrocholsäure.

in einer Clemmensen-Reduktion erfolgen.^[79,80] Hierbei ist vor allem die Verwendung einer Quecksilberlegierung bedenklich. Zudem kann bedingt durch den SET-Mechanismus eine ganze Reihe von Nebenreaktionen auftreten, die zu Pinakolen, Alkenen und Ähnlichem führen. Um selektiv die desoxygenierte Verbindung zu erhalten, muss daher zunächst die Reaktionsführung optimiert werden. Komplementär zur Clemmensen-Reduktion ist die Wolff-Kishner-Reduktion, bei der die Reaktion mit Hydrazin unter stark basischen Bedingungen durchgeführt wird.^[81,82] Mit Ausbeuten zwischen 80 und 100 % je nach Edukt stellt die Wolff-Kishner-Reduktion die beste Alternative zur vollständigen Entfernung der Alkoholgruppen dar. Hinzu kommt, dass die benötigten Chemikalien Hydrazinhydrat und KOH sehr preisgünstig sind.

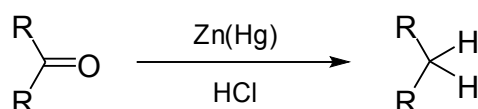
Eliminierung Hydrierung



Wolff-Kishner Reduktion



Clemmensen-Reduktion



Barton-McCombie

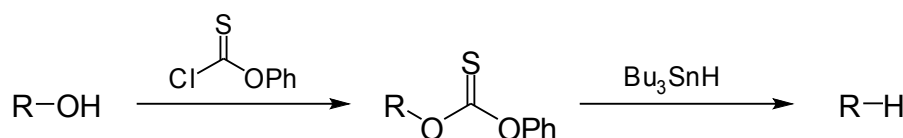


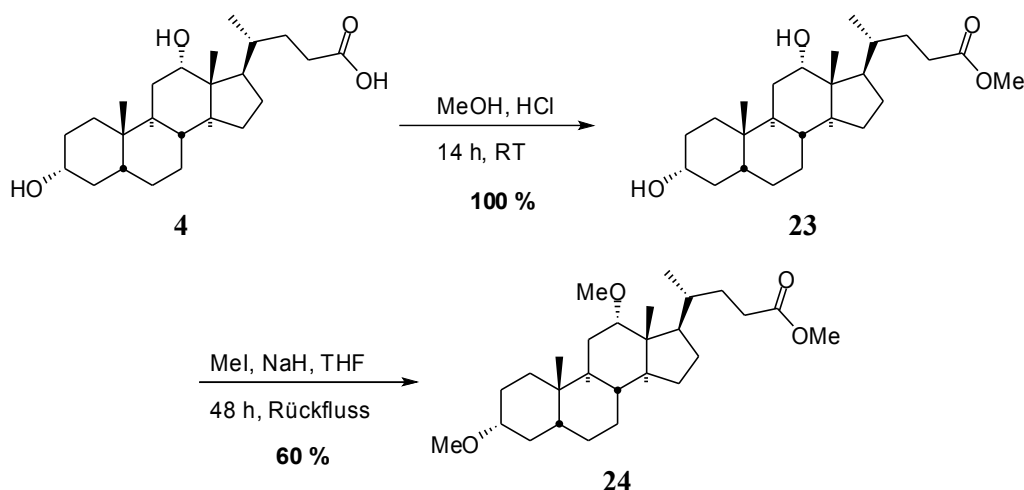
Abb. 17: Vollständige Reduktion von Alkoholen/Ketonen.

Für die Synthese des Desoxycholsäureankers wurde die Methylierung der OH-Gruppen deren Reduktion aus mehreren Gründen vorgezogen. Während die Methylierung in nur einer Stufe das gewünschte Produkt liefert, sind zur vollständigen Entfernung der Alkohole zwei notwendig: Eliminierung und Hydrierung bzw. Oxidation zum Keton und Reduktion. Da bei Reaktionen an

multiplen Funktionalitäten mit Ausbeuteverlusten zu rechnen ist, bietet hier eine einstufige Synthese Vorteile. Durch Verwendung von Dehydrocholsäure (**22**) ließe sich zwar die benötigte Stufenzahl auf eine Stufe senken, jedoch müssen bei **22** im Gegensatz zur Desoxycholsäure drei funktionelle Gruppen reduziert werden. Zudem weist der durch die Methylierung erhaltene Dimethoxycholansäureanker eine andere Polarität auf als der Cholesterolanker, so dass der Einfluss einer zusätzlichen Funktionalisierung durch einen Vergleich der Affinitäten zur Festphase untersucht werden kann. Ein signifikanter Unterschied in der Affinität zwischen einem Cholansäureanker und dem Cholesterolanker ist hingegen nicht zu erwarten.

3.2.3 Methylierung

In der Literatur sind bislang nur wenige Methylierungen von Desoxycholsäure (**4**) beschrieben, bei denen zudem nur wenige 100 mg umgesetzt wurden. Zur Entwicklung einer effizienten Synthese für größere Maßstäbe wurden daher zunächst verschiedene Methylierungsmittel, Lösungsmittel und Reaktionsbedingungen untersucht. Als Ausgangspunkt dienten Experimente von P. Bandyopadhyay et al.^[83] zur Permethylierung von Cholsäure (**3**) sowie von C. Li et al.^[84], die Allylierungen von Cholsäurederivaten durchführten. Entsprechend wurden die ersten Versuche mit NaH in THF unter Rückfluss durchgeführt. Als Alkylierungsmittel diente Methyljodid. Da Desoxycholsäure (**4**) selbst in THF nur schwer löslich ist, kam der Methylester (**23**) zum Einsatz, der zuvor über eine sauer katalysierte Veresterung mit Methanol in quantitativen Ausbeuten hergestellt wurde. Auch nach 48 h unter Rückfluss und mehrmaligem Nachdosieren von Methyljodid konnte kein vollständiger Umsatz erzielt werden. Dies ist vermutlich auf die leichte Flüchtigkeit des Methylierungsmittels zurückzuführen, da es schnell verdampft und so nicht mehr für die Reaktion zur Verfügung steht. Auch die Durchführung der Reaktion unter Schutzgasatmosphäre verbesserte den Umsatz nicht wesentlich. Nach chromatographischer Aufarbeitung konnten 60 % des 3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholansäuremethylesters (**24**) leicht verunreinigt isoliert werden.



Schema 17: Methylierung von Desoxycholsäure (**4**).

Die Identität der im NMR-Spektrum gefundenen Verunreinigung ließ sich zunächst nicht bestimmen, zumal das Produkt im DC nur einen Fleck zeigte und sich daher chromatographisch nicht weiter aufreinigen ließ. Bei der in späteren Experimenten durchgeführten Reduktion zum Alkohol (s. Kapitel 3.4.1 Alkohol-Linker, S. 46) zeigte das DC ein polareres Nebenprodukt, das isoliert und charakterisiert werden konnte. Es handelte sich um eine nur einfach methylierte Spezies mit einer freien OH-Gruppe an Position 3 oder 12. Dies legte die Vermutung nahe, dass bei der Methylierung auch eine inter- oder intramolekulare Umesterung des Methylesters **23** stattfindet, wobei das „Dimer“ **25** oder das Lacton **26** entsteht. Auch die Bildung von Cyclooligomeren wäre denkbar.^[85] Alle diese Nebenprodukte weisen eine ähnliche Polarität wie das Hauptprodukt **24** auf. Bei der Reduktion mit LAH werden die veresterten OH-Gruppen wieder freigesetzt, was eine Unterscheidung vom Hauptprodukt aufgrund der Polarität ermöglicht.

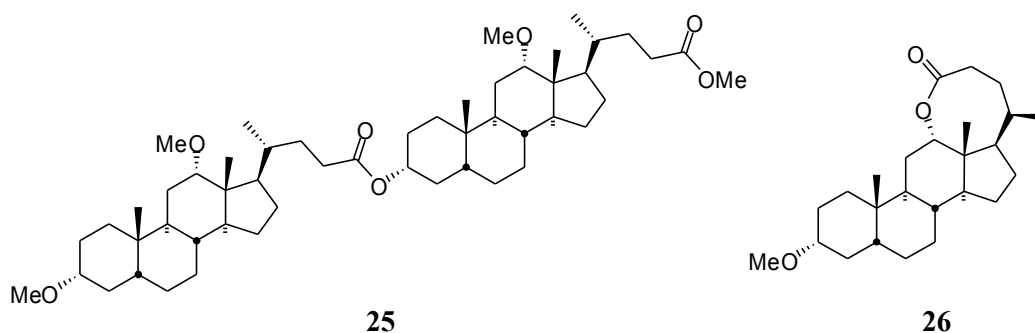
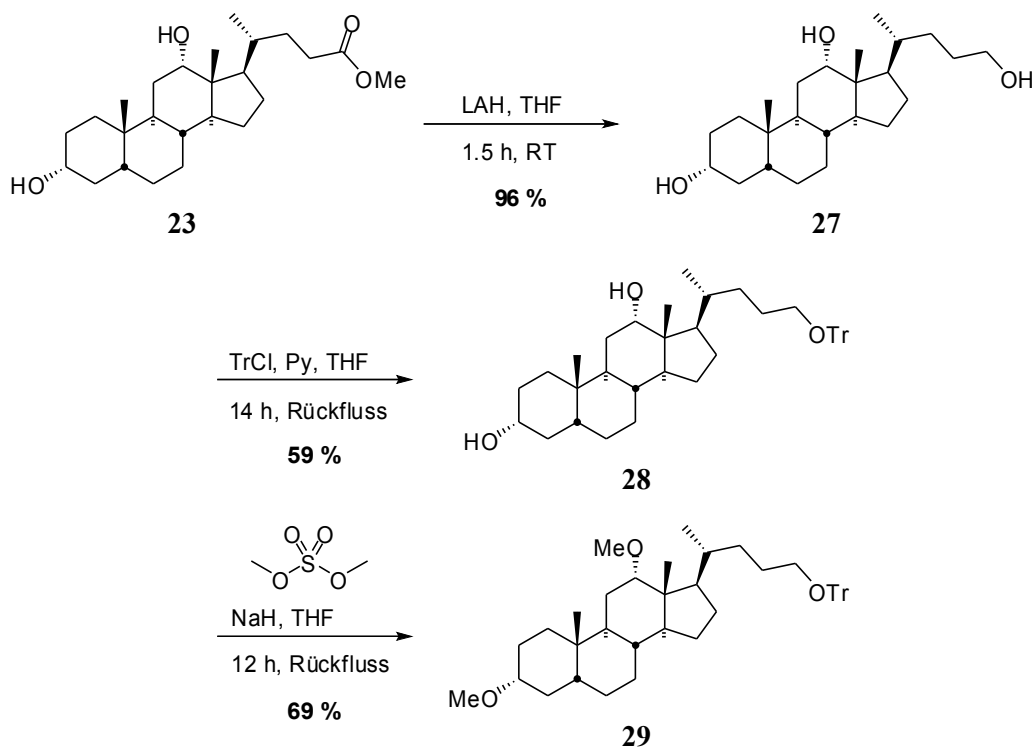


Abb. 18: Mögliche Nebenprodukte bei der Methylierung von Desoxycholsäuremethylester (**23**).

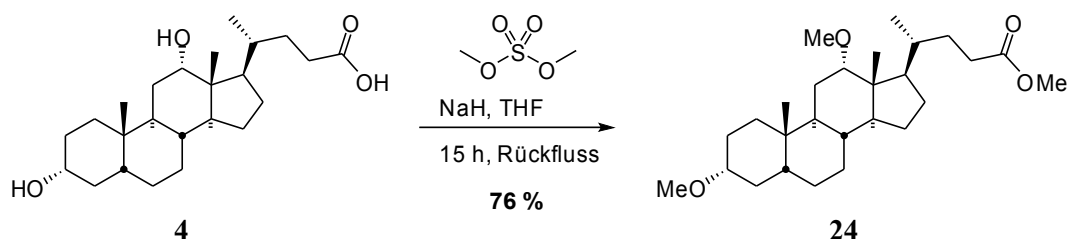
Um die zuvor beschriebenen Probleme bei der Permethylierung zu beseitigen, erfolgten verschiedene Optimierungen an der Reaktionsführung. Methyljodid wurde durch Dimethylsulfat ersetzt, da dieses einen wesentlich höheren Siedepunkt aufweist und während der Reaktion nicht oder zumindest wesentlich langsamer verdampft. Um die beobachtete Umesterung zu unterdrücken, wurden statt des Methylesters **23** andere Edukte eingesetzt. Hierbei wurden zwei Varianten untersucht: Zum einen wurde analog zu C. Li et al.^[84] der tritylgeschützte Alkohol **29** und zum anderen Desoxycholsäure (**4**) verwendet.

3 γ ,12 γ -Dihydroxy-5 δ -cholan-24-yltritylether (**28**) wurde aus Desoxycholsäuremethylester (**23**) über Reduktion zum Alkohol **27** und anschließendes Schützen mit Tritylchlorid hergestellt. Während die Reduktion mit LAH erwartungsgemäß in hohen Umsätzen und Ausbeuten verlief, ergab die anschließende Umsetzung mit Tritylchlorid und Triethylamin in THF kein Produkt. Erst der Einsatz von Pyridin als Base lieferte nach einer Reaktionszeit von 14 h den Tritylether **28** in einer Ausbeute von 59 %. Bei der darauf folgenden Methylierung mit Dimethylsulfat konnte zwar eine Steigerung der Ausbeute auf 69 % erreicht werden, die Gesamtausbeute über alle drei Stufen ist jedoch schlechter als bei der direkten Methylierung von Desoxycholsäuremethylester (**23**).



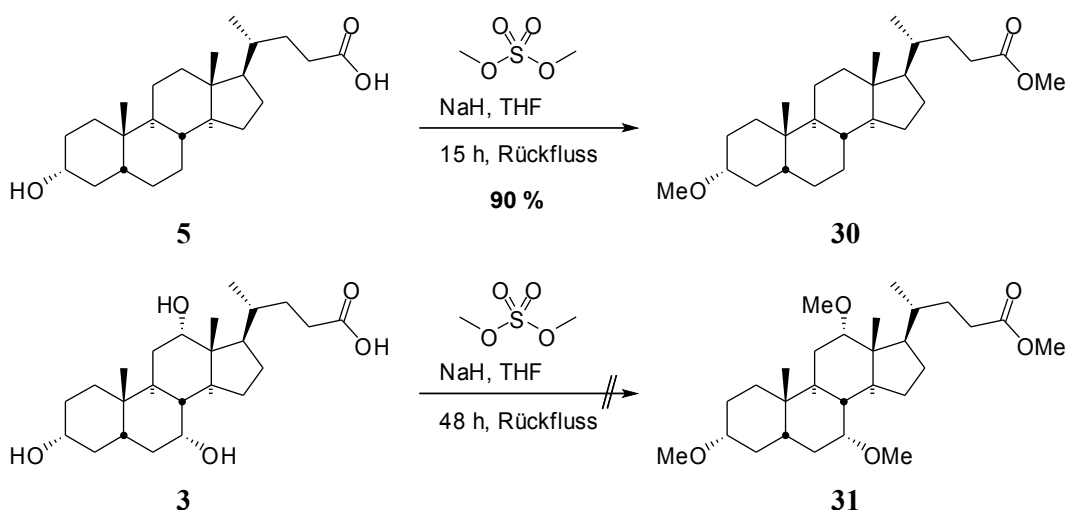
Schema 18: Synthese und Methylierung des Tritylethers **28**.

Alternativ zum Tritylether **28** kam freie Desoxycholsäure (**4**) zum Einsatz. Bei der Carbonsäure bzw. deren Natriumsalz findet eine Veresterung mit den OH-Gruppen der Desoxycholsäure nicht statt, der für die Umesterung notwendige Methylester bildet sich erst während der Reaktion. Demzufolge ist eine deutliche Verringerung der Tendenz zur Nebenreaktion zu erwarten.



Schema 19: Methylierung von Desoxycholsäure (**4**) mit Dimethylsulfat.

In der Tat verringerte sich nicht nur die Reaktionszeit von 48 h auf 15 h, ohne dass im Reaktionsverlauf Dimethylsulfat zudosiert werden musste, auch die Bildung von Nebenprodukten konnte nicht beobachtet werden. Zur Isolierung des Produktes war nach wie vor eine chromatographische Trennung notwendig. In diesem Fall genügte jedoch eine Filtration über 5 – 10 cm Kieselgel. Insgesamt konnte die Ausbeute auf 76 % gesteigert werden.



Schema 20: Permethylierung von Cholsäure (**3**) und Lithocholsäure (**5**).

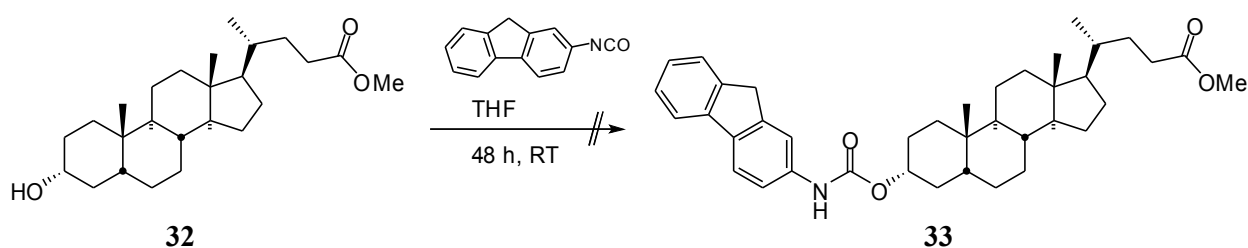
Um zu untersuchen, inwieweit die Anzahl der zu methylierenden Hydroxyfunktionen einen Einfluss auf den Reaktionsverlauf hat, wurden auch Cholsäure (**3**) und Lithocholsäure (**5**) mit Dimethylsulfat umgesetzt. Die Reaktion zur permethylierten Cholsäure zeigte auch nach zwei Tagen und mehrmaligem Zudosieren des Methylierungsmittels keinen vollständigen Umsatz und eine

Isolierung des 3 γ ,7 γ ,12 γ -Trimethoxy-5 δ -cholansäuremethylesters (**31**) aus dem komplexen Reaktionsgemisch war nicht möglich. Die Synthese von 3 γ -Methoxy-5 δ -cholansäuremethylester (**30**) gelang in einer sehr guten Ausbeute von 90 %, Nebenreaktionen wie im Fall der Desoxycholsäure (**4**) wurden nicht beobachtet.

3.2.4 Anbindung chromophorer Gruppen

Um eine einfachere Reaktionsverfolgung mittels DC zu ermöglichen, wurde bereits in früheren Arbeiten^[86] die Möglichkeit zur Anbindung von *N*-(4-Brom-1-butyl)-acridon an Lithocholsäure durch Alkylierung der OH-Gruppe untersucht. Nachdem diese Experimente nicht zufriedenstellend verliefen und zudem Schwierigkeiten bei der Alkylierung des weniger funktionalisierten Cholesterols auftraten, wurde eine andere Strategie gewählt. Isocyanate reagieren schnell mit Alkoholen unter Bildung von Carbaminsäuren. Obgleich Carbaminsäuren reaktiver und damit leichter spaltbar sind als Ether, weisen sie dennoch eine hinreichende chemische Stabilität auf, so dass der resultierende chromophore Anker bei einer großen Zahl verschiedener Synthesesequenzen verwendet werden kann. Eine Reihe von Isocyanaten mit UV- oder sogar fluoreszenzaktiven Gruppen sind zudem kommerziell erhältlich.

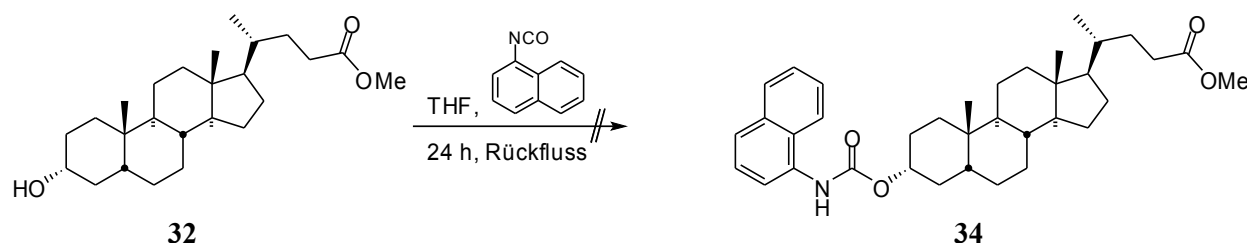
Erste Versuche wurden mit 9*H*-Fluoren-2-ylisocyanat durchgeführt. Nach 48 h bei RT konnte kein Umsatz des Lithocholsäuremethylesters (**32**) festgestellt werden. Der sich bildende Niederschlag erwies sich als der bei Reaktion des Isocyanats mit 2-Amino-9*H*-fluoren, einem Abbauprodukt des 9*H*-Fluoren-2-ylisocyanats, entstehende symmetrische Harnstoff. Die Reinheit des 9*H*-Fluoren-2-ylisocyanats konnte aufgrund dessen Unlöslichkeit in verschiedenen deuterierten Lösungsmitteln mittels NMR jedoch nicht bestimmt werden.



Schema 21: Versuchte Kupplungsreaktion mit 9*H*-Fluoren-2-isocyanat.

Um Nebenreaktionen mit Zersetzungsprodukten zu minimieren, wurde für weitere Versuche eine neue Charge Isocyanat verwendet, unter Einsatz von 1-Naphthylisocyanat statt des relativ teuren

9H-Fluoren-2-ylisocyanats. Die Reaktion wurde in THF unter Rückfluss und unter Schutzgasatmosphäre durchgeführt, um eine Hydrolyse während der Reaktion zu verhindern. Nach 24 h konnte auch hier keinerlei Umsatz festgestellt werden. Eine Aktivierung des Alkohols mit Triethylamin^[87] führte ebenfalls zu keiner Verbesserung.



Schema 22: Reaktion mit 1-Naphthylisocyanat.

Um einen generellen Fehler in der Durchführung auszuschließen und gleichzeitig die Reaktivität des Isocyanates gegenüber Alkoholen zu überprüfen, wurde 1-Naphthylisocyanat mit einfachen primären und sekundären Alkoholen umgesetzt, was schon beim Zusammengeben bei RT zu einer heftigen Reaktion führte. Das Ausbleiben einer Reaktion mit Lithocholsäuremethylester (32) ist demzufolge auf die sterische Hinderung der Alkoholfunktion zurückzuführen.

3.3 Vergleichende Betrachtung der Synthesesequenzen für hydrophobe Anker

Bisherige Arbeiten zur reversiblen Festphasensynthese verwendeten den Fluoreszenzfarbstoff Acridon beziehungsweise Glycerol-1,3-bis-(octadecanyl)-ether als hydrophobe Anker. Die Synthesen dieser Verbindungen wurden bislang lediglich im Grammmaßstab durchgeführt und lassen sich infolge der eingesetzten Aufarbeitungstechniken nicht einfach auf größere Ansätze skalieren.

Bei der Herstellung des Acridonankers in einer zweistufigen Synthesesequenz ausgehend von *N*-Phenylanthranilsäure werden Ausbeuten zwischen 60 und 75 % erhalten, die von dem für die zweite Stufe verwendeten Alkylierungsmittel abhängen.^[48] Die Aufarbeitung erfolgt für beide Stufen über Säulenchromatographie, was bereits für die Herstellung von mehreren zehn Gramm Ankermaterial einen hohen Aufwand bedeutet, da die Aufarbeitung chargenweise erfolgen müsste.

Rademann et al.^[88,89] verwenden zur hydrophoben Markierung langkettige Alkohole wie *n*-Octadecanol, wovon zwei Einheiten mit Epichlorhydrin zum Glycerol-1,3-bis-(octadecanyl)-ether

umgesetzt werden (s. Abb. 19). An der verbleibenden Hydroxylfunktion des Glycerols erfolgt dann die Anbindung des Wang-Linkers. Die verwendeten Reagenzien n-Octadecanol und Epichlorhydrin sind zwar preisgünstiger als Cholesterol oder Desoxycholsäure, jedoch beträgt die Ausbeute über die ersten beiden Stufen lediglich 40 %. Darüber hinaus ist nach der zweiten Stufe eine chromatographische Aufreinigung notwendig, wodurch wie bei der Synthese des Acridonankers die Skalierbarkeit eingeschränkt ist. Nach diesen beiden Stufen hat man einen Anker mit einer sekundären Alkoholfunktion und befindet sich damit in einer ähnlichen Situation wie beim Cholestanol: Um verschiedene Linkerfunktionalitäten effektiv anbringen zu können, muss zunächst noch ein Spacer eingeführt werden.

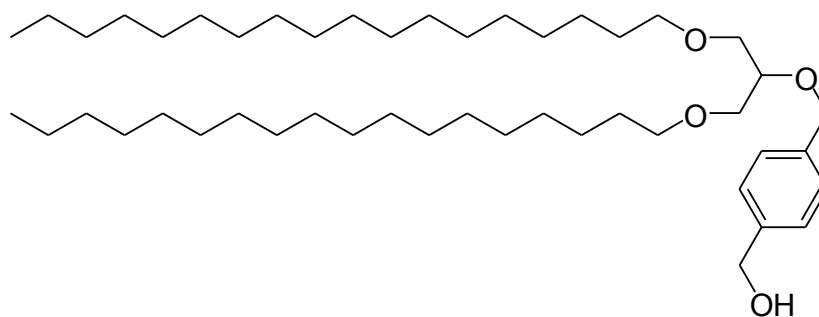


Abb. 19: Hydrophober Anker von Rademann et al.

Bei der Synthese des Desoxycholsäureankers ist nur eine Stufe notwendig, um zu einem Anker mit Esterfunktionalität als Linker zu gelangen. Jedoch wird trotz des höheren Aufwands einer vierstufigen Synthesesequenz für den Cholesterolanke mit 84 % eine höhere Gesamtausbeute erreicht. Als Nachteil der Synthese des Desoxycholsäureankers, vor allem in Bezug auf die maximal mögliche Ansatzgröße, ist sicherlich zu sehen, dass in jedem Fall eine chromatographische Aufarbeitung zwingend notwendig ist. Da es sich bei 3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholansäuremethylester (**24**) um ein Öl handelt, ist eine Aufreinigung durch Kristallisation nicht möglich. Für eine Destillation ist der Siedepunkt zu hoch. Bei Reaktionsansätzen mit mehreren 10 g Desoxycholsäure (**4**) lässt sich die chromatographische Aufarbeitung noch mit vertretbarem Aufwand durchführen. Die Trennung größerer Ansätze muss chargenweise erfolgen. Bei der Synthese des Cholesterolanke wurden Ansätze bis 0.18 mol durchgeführt, was etwa 80 g (5 γ -Cholestan-3 δ -yl)-essigsäure-ethylester (**21**) entspricht. Schwierigkeiten bei Durchführung oder Aufarbeitung aufgrund der Ansatzgröße traten hier nicht auf.

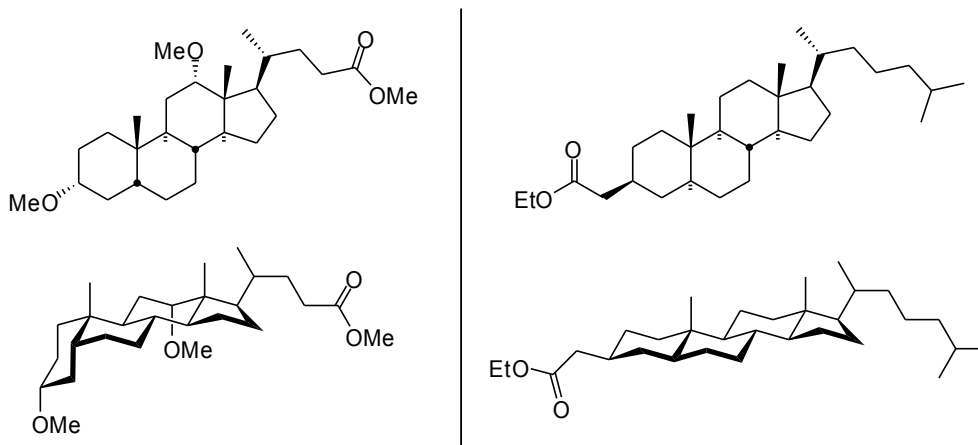


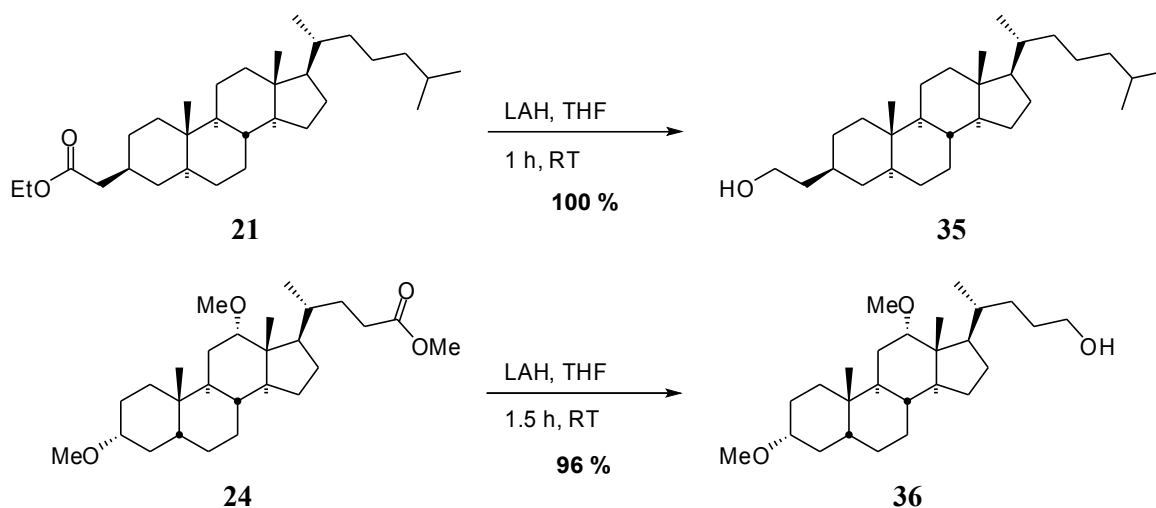
Abb. 20: Vergleich von Cholesterol- und Desoxycholsäureanker.

Für Mengen an Ankermaterial, die für Synthesen im Labormaßstab benötigt werden, ist die einstufige Synthese des Desoxycholsäureankers schneller, einfacher und kostengünstiger. Werden größere Mengen benötigt, zeigen sich die Vorteile der hohen Ausbeuten und einfachen Aufarbeitungsschritte der Synthese des Cholesterolankers. Ein Vergleich der beiden Anker hinsichtlich ihrer Bindungsstärke an RP-Kieselgel folgt in Kapitel 3.8 (s. S. 71).

3.4 Verschiedene Linker

3.4.1 Alkohol-Linker

Zur Anbindung von Substraten, die Carbonsäuregruppen tragen, kann die Esterfunktionalität der beiden Anker **21** und **24** leicht zum Alkohol reduziert werden. Reduktionsmittel war hier Lithiumaluminiumhydrid, das sowohl das Cholesterolderivat **21** als auch den Dimethoxycholansäureester **24** in weniger als zwei Stunden vollständig zu den Alkoholen 2-(5 γ -Cholestan-3 δ -yl)-ethanol (**35**) und 3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-ol (**36**) reduzierte. Die Produkte wurden jeweils direkt in so hoher Reinheit erhalten, dass eine weitere Aufreinigung nicht notwendig war.

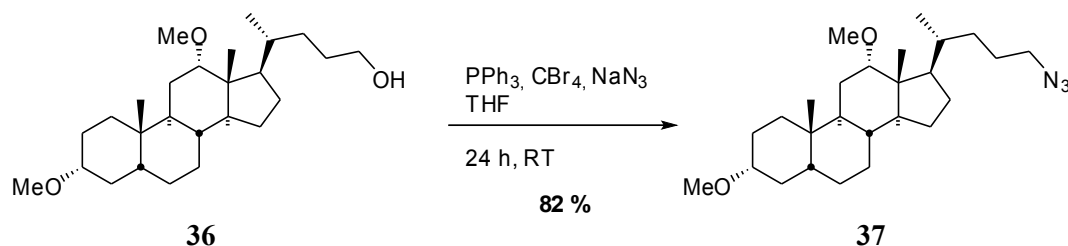


Schema 23: Herstellung von Ankeralkoholen.

3.4.2 Azid-Linker

Die Einführung einer Azid-Gruppe in die Ankermoleküle ist aus zwei Gründen interessant. Zum einen kann aus dem Azid leicht das entsprechende Amin durch Reduktion hergestellt werden. Dieses Vorgehen ist einfacher als die nucleophile Substitution einer Abgangsgruppe wie Tosylat oder Bromid mit Ammoniak. Zum anderen kann ein Substrat, das eine endständige Dreifachbindung trägt, über eine sog. „Click“-Reaktion^[90] hochselektiv angebunden werden. Weitere Details zur Verwendung von „Click“-Reaktionen zur Anbindung von Substraten finden sich in Kapitel 3.6.2 (s. S. 55). Zu beachten ist hierbei allerdings, dass sich das bei der Reaktion von Azid mit Alkin bildende 1,2,3-Triazol selbst nicht mehr ohne weiteres spalten lässt. Die für eine Spaltung notwendigen drastischen Bedingungen führen zur Zersetzung der meisten Substrate. Um das Substrat am Ende der Synthesesequenz dennoch vom Anker trennen zu können, ist die Einführung einer selektiv spaltbaren funktionellen Gruppe notwendig.

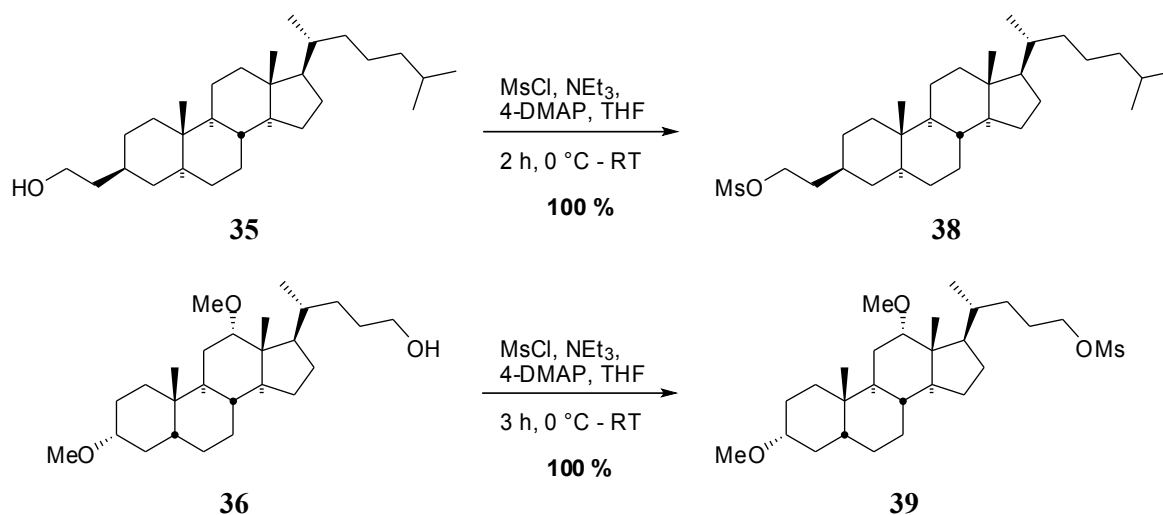
Ausgehend vom Alkohol **36** wurde 3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-ylazid (**37**) zunächst über eine Eintopfreaktion nach Mitsunobu^[91] synthetisiert. Unter Einsatz von Natriumazid anstelle des von I. Yamamoto et al.^[92] verwendeten, stark hygroskopischen Lithiumazids wurden gute Umsätze und Ausbeuten erreicht. Eine weitere Steigerung der Umsätze konnte auch durch Zudosieren von Triphenylphosphin und Tetrabrommethan im Reaktionsverlauf nicht erreicht werden. Da die Reaktion eine sehr hohe Empfindlichkeit gegenüber Feuchtigkeit aufweist, wurde außerdem mit getrockneten Lösungsmitteln und unter Schutzgasatmosphäre gearbeitet, was jedoch ebenfalls nicht zur einer Verbesserung des Umsatzes führte.



Schema 24: Einführung der Azidgruppe über eine Mitsunobu-Reaktion.

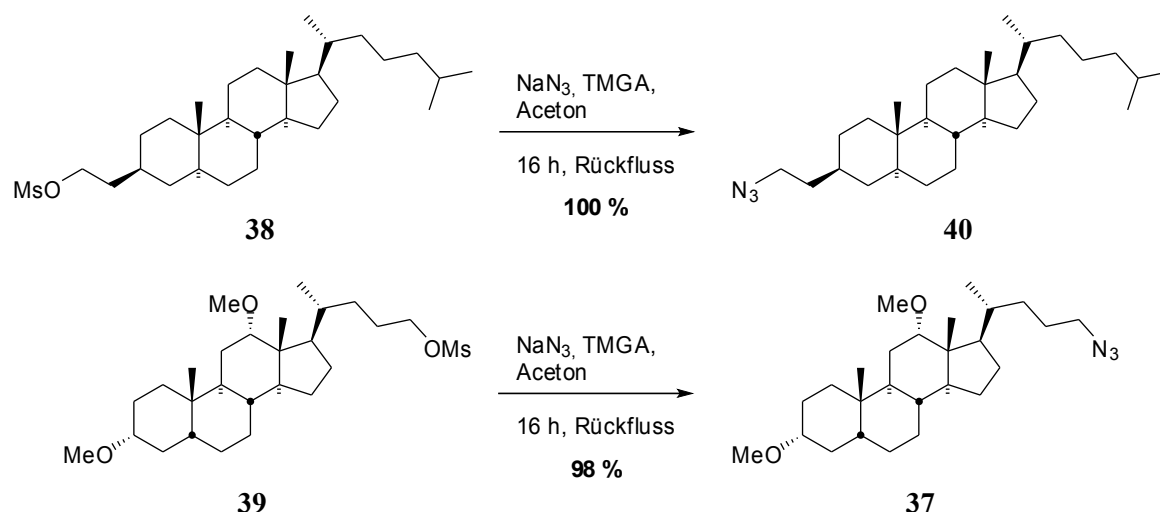
Alternativ wurde die Einführung einer Azidgruppe über eine zweistufige Syntheseroute untersucht.

[93] Hierzu wurden die beiden Alkohole **35** und **36** durch Umsetzung mit Mesylchlorid in 1-(5 γ -Cholestan-3 δ -yl)-2-methansulfonyl-ethan (**38**) bzw. 3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-ylmesylat (**39**) überführt. Die Methansulfonsäureester wurden üblicherweise sofort weiter umgesetzt.



Schema 25: Überführung der Alkohole in ihre Methansulfonsäureester.

Die Umsetzungen mit Natriumazid zu den Aziden **40** und **37** in Aceton als Lösungsmittel und unter Rückfluss^[94] waren erst nach etwa sieben Tagen abgeschlossen, was einer zu niedrigen Reaktionstemperatur zuzuschreiben war. In den höher siedenden Lösungsmitteln DMF und Ethylenglykoldimethylether (Glyme) erfolgte die Umsetzung der Edukte zwar wesentlich schneller, gleichzeitig war jedoch die Bildung von Nebenprodukten zu beobachten. In DMF wurde das gewünschte Produkt überhaupt nicht erhalten. Bei einer Reaktionstemperatur von 70 °C in Glyme konnte die Bildung von Nebenprodukten bei annehmbarer Reaktionsgeschwindigkeit – zwei Tage für vollständigen Umsatz – weitgehend unterdrückt werden. Dennoch war das Verfahren nicht zufriedenstellend.



Schema 26: Synthese der Azide.

Durch Einsatz von *N,N,N',N'*-Tetramethylguanidiumazid^[95] (TMGA) als Phasentransferkatalysator konnte die Reaktionszeit auf 16 h herabgesetzt werden. Darüber hinaus ließ sich die Reaktion wieder in Aceton unter Rückfluss durchführen, wobei die Bildung von Nebenprodukten nicht mehr auftrat. Das teure TMGA wird hierbei nur in katalytischen Mengen eingesetzt, da das wesentlich günstigere Natriumazid als Azidquelle fungiert. Mit dem Cholesterolderivat **38** wurden quantitative Ausbeuten erreicht. Die Ausbeuten für das 3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-ylazid (**37**) waren aufgrund dessen schlechterer Extrahierbarkeit geringfügig niedriger, lagen aber dennoch über 95 %.

3.4.3 Amin-Linker

Amin-Linker eignen sich ebenso wie Alkohol-Linker zur Anbindung von Carbonsäuren. Die entstehenden Amide sind wesentlich unempfindlicher gegenüber Säuren und Basen, lassen sich aber auf der anderen Seite auch nicht so einfach spalten wie die bei der Verwendung eines Alkohol-Linkers entstehenden Ester. Die höhere Stabilität machte sie für die Untersuchung der Bindung der verschiedenen Anker zur Festphase interessant, da es hierbei nicht auf die Spaltbarkeit des Linkers ankam.

Analog zu einer Vorschrift von K. Weber et al.^[96] wurden die Mesylate **38** und **39** in Methanol bei -30 °C direkt mit wässriger Ammoniak-Lösung umgesetzt. Nach mehreren Tagen Reaktionszeit konnten auf diese Weise um 70 % 2-(5 γ -Cholestan-3 δ -yl)-ethylamin (**42**) bzw. 3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-ylamin (**43**) isoliert werden. Die Produkte ließen sich durch Lösen in Diethylether und anschließendes Ausfällen als Hydrochlorid durch Einleiten von HCl-Gas reinigen,

so dass die in der Literatur beschriebene chromatographische Aufarbeitung nicht notwendig war. Die Reaktionszeit erschien jedoch zu lang und außerdem die Ausbeute vor allem zur Synthese großer Mengen zu niedrig. Aus diesem Grund wurde die Reduktion der Azide als alternative Syntheseroute untersucht.

Aufgrund der guten Erfahrungen mit LAH bei der Reduktion der Ester **21** und **24** wurden die Azide **40** und **37** analog umgesetzt. Auch hier war die Reaktion nach wenigen Stunden beendet, die Bildung von Nebenprodukten war nicht zu beobachten. Im Unterschied zur Reduktion der Ester erfolgte die Aufarbeitung hier basisch mit KOH. Dennoch ließen sich die Amine **42** und **43** nur schwierig und auch nicht vollständig extrahieren, so dass es zu hohen Ausbeuteverlusten kam. Als weitere Reduktionsmittel kamen Triphenylphosphin^[97] sowie Wasserstoff mit Palladium auf Aktivkohle als Katalysator^[98] in Frage. Die Wahl fiel letztendlich auf eine katalytische Hydrierung, da sich die Abtrennung des bei der Reduktion mit Triphenylphosphin entstehenden Triphenylphosphinoxids oftmals schwierig gestaltet und außerdem die Hydrierung die insgesamt kostengünstigere Synthese ist. Abweichend von der Literaturvorschrift wurde Lindlar-Katalysator statt Pd/C eingesetzt.

Die Hydrierung von 1-Azido-2-(5 γ -cholestan-3 δ -yl)-ethan (**40**) in Ethanol ergab zunächst eine Verbindung, die im NMR vier zusätzliche Kohlenstoffsignale zeigte. Bei dem Produkt handelte es sich um *N*-(2-Butyl)-2-(5 γ -cholestan-3 δ -yl)-ethylamin (**41**), das bei der reduktiven Aminierung von 2-(5 γ -Cholestan-3 δ -yl)-ethylamin (**42**) mit Methylethylketon (MEK) entstanden sein musste.

MEK wird als Vergällungsmittel für Ethanol eingesetzt. Die Hydrierung in THF:Wasser 10:1 lieferte dann letztendlich die gewünschten Produkte 2-(5 γ -Cholestan-3 δ -yl)-ethylamin (**42**) und 3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-ylamin (**43**) in Ausbeuten von 97 %.

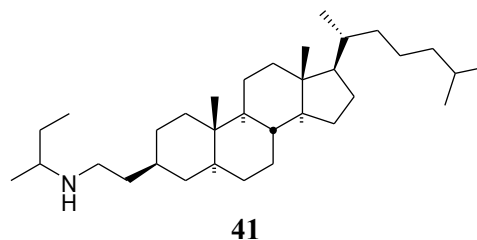
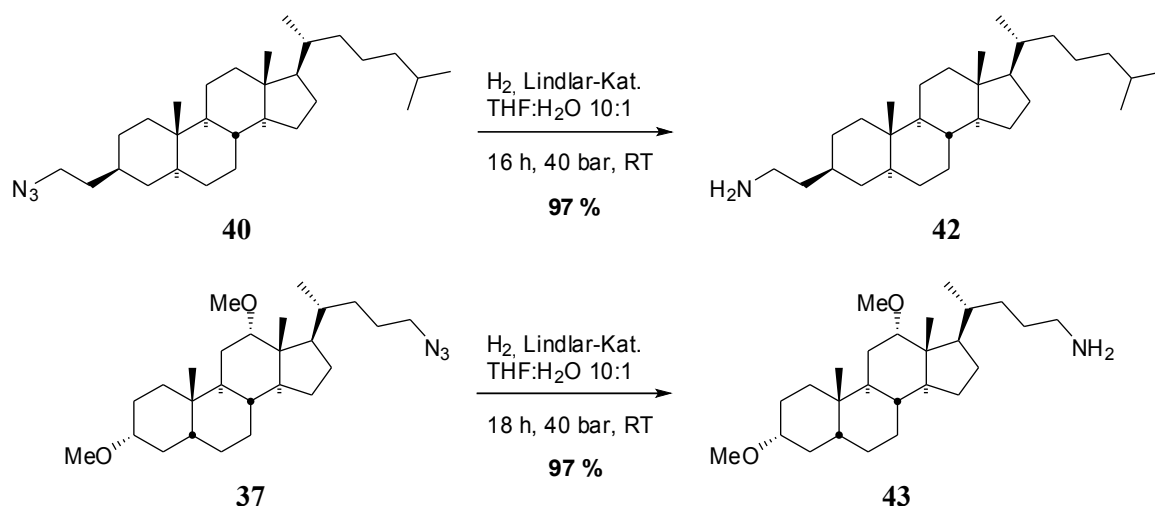


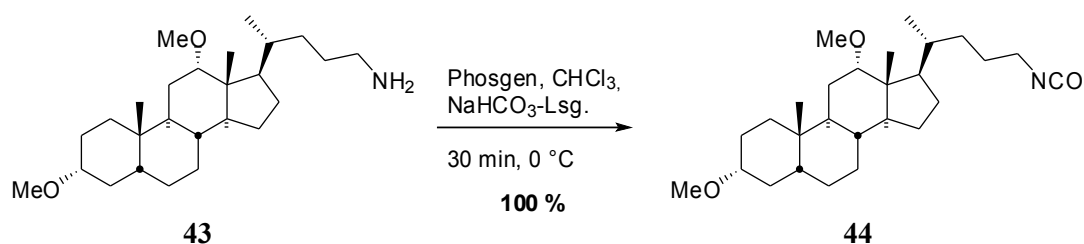
Abb. 21: *N*-(2-Butyl)-2-(5 γ -cholestan-3 δ -yl)-ethylamin (**41**).



Schema 27: Reduktion der Azide mit Lindlar-Kat. unter H_2 -Atmosphäre.

3.4.4 Isocyanat-Linker

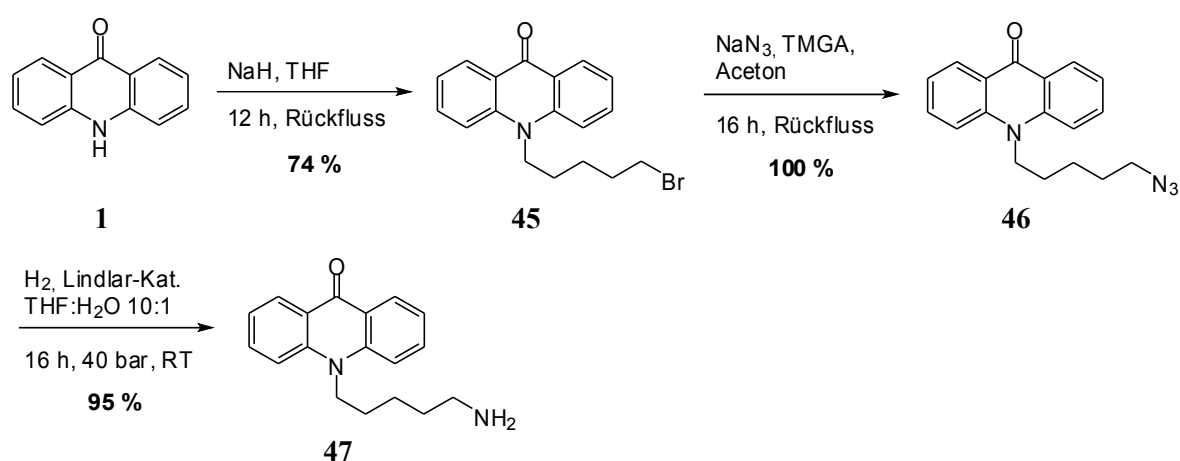
Über Isocyanate lassen sich Alkohole oder Amine binden, wobei Carbamate bzw. Harnstoffe entstehen. Während die Harnstoffe nur relativ schwer gespalten werden können, erhält man Carbamate auch beim Schützen von Aminen zum Beispiel mit Boc oder Fmoc. Die Isocyanatsynthese wurde beispielhaft mit 3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-ylamin (**43**) nach einer Vorschrift von D. L. McMinn et al.^[99] in einem Zweiphasensystem mit Phosgen durchgeführt. Hierzu wurde das Amin oder dessen Hydrochlorid in Chloroform gelöst und die organische Phase mit Hydrogencarbonat-Lösung überschichtet. Die Phosgenlösung wurde dann über eine Spritze direkt zur Chloroformphase hinzugegeben. Bei dieser Vorgehensweise kann nicht nur auf die Verwendung von getrockneten Lösungsmitteln verzichtet werden, auch die Zerstörung von überschüssigem Phosgen geschieht automatisch. Das Amin **43** wurde quantitativ zum 3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-ylisocyanat (**44**) umgesetzt, ohne dass eine weitere Aufarbeitung notwendig war.



Schema 28: Synthese von 3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-ylisocyanat (**44**).

3.5 Synthese des Acridonankers

Um die beiden neuen Ankermoleküle mit Acridon vergleichen zu können, wurde der Acridonanker mit zu den neuen Ankern identischen Linkergruppierungen versehen. So lassen sich die für den Vergleich der Anker verwendeten Substrate (s. Kapitel 3.8, S. 71) auf die gleiche Art und Weise anbringen, wie an den Cholesterol- bzw. Desoxycholsäureanker, wodurch eine möglichst hohe Vergleichbarkeit der Messergebnisse erreicht werden soll. Zudem wurde der Acridonanker für die Suche nach geeigneten Reaktionen zur Anbindung von Sacchariden (s. Kapitel 3.6, S. 53) und die Optimierung der Reaktionsbedingungen verwendet, da er die Reaktionskontrolle mittels DC dank seiner Fluoreszenzaktivität wesentlich vereinfacht. Zur Synthese des Ankers wurde Acridon (**1**) analog der literaturbekannten^[48] Syntheseroute zunächst mit 1,5-Dibrompentan zu 10-(5-Brom-1-pentyl)-acridin-9(10*H*)-on (**45**) alkyliert. Dieses konnte mit Natriumazid zu 10-(5-Azido-1-pentyl)-acridin-9(10*H*)-on (**46**) und anschließend über katalytische Hydrierung zu 10-(5-Amino-1-pentyl)-acridin-9(10*H*)-on (**47**) umgesetzt werden. Durch Optimierung der Reaktionsparameter wurden die Ausbeuten der einzelnen Stufen teilweise erheblich gesteigert. So erfolgte die Umsetzung mit Natriumazid nicht in DMF, sondern nach der schon für die Cholesterol- und Desoxycholsäurederivate erfolgreichen Methode in Aceton mit TMGA als Katalysator, wobei eine praktisch quantitative Ausbeute erzielt werden konnte. Auch auf das Schützen des Amins mit Boc-Anhydrid während der Hydrierung^[100] wurde verzichtet, wobei nicht nur der zusätzliche Reaktionsschritt der Entschützung eingespart werden konnte, sondern auch eine Ausbeutesteigerung von 80 auf 95 % zu verzeichnen war.



Schema 29: Synthese des Acridonankers (mit Amin-Linker).

Bei der chromatographischen Aufarbeitung – insbesondere bei der Synthese von 10-(5-Brom-1-pentyl)-acridin-9(10*H*)-on (**45**) – konnte im Produkt immer auch Acridon (**1**) nachgewiesen werden, obwohl sich Nebenprodukte wie 10-(4-Penten-1-yl)-acridin-9(10*H*)-on (**48**) vollständig abtrennen ließen. Dies ist umso bemerkenswerter, da das Alken **48** einen ähnlichen Retentionsfaktor aufweist wie das Bromid **45**, während dieser bei Acridon (**1**) wesentlich niedriger ist. Dieser Umstand ließ darauf schließen, dass die Bindung vom Alkylspacer zum Stickstoff des Acridons nicht stabil ist und unter den sauren Bedingungen einer chromatographischen Trennung an Kieselgel partiell gespalten wird. Aufgrund dieser Überlegungen wurden für die chromatographische Aufarbeitung acridonhaltiger Verbindungen generell Laufmittel mit einem Anteil von 1 % (v/v) Triethylamin eingesetzt. Eine Verunreinigung der jeweiligen Produkte mit Acridon (**1**) konnte daraufhin nicht mehr beobachtet werden.

3.6 Anbindung von Sacchariden

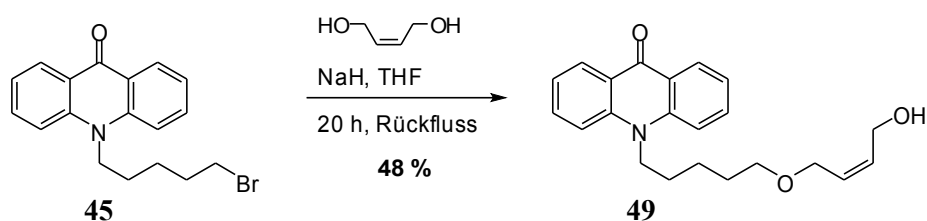
3.6.1 Anbindung mittels Helferich-Reaktion

Oligosaccharide spielen in der Natur bei einer Vielzahl von Prozessen eine wichtige Rolle. Hoch selektive biologische Erkennungsprozesse, zu denen interzelluläre Kommunikation, Zelladhäsion und Immunabwehr gehören, sind unter anderem aufgrund der ungeheuren strukturellen Vielfalt der maßgeblich beteiligten Zuckerstrukturen möglich.^[101,102,103,104] Dabei handelt es sich normalerweise um Glycokonjugate wie Glycoproteine und Glycolipide, die an Zelloberflächen gebunden sind.^[105, 106] Aus pharmakologischer Sicht ist eine Untersuchung dieser Strukturen interessant, da sie für physiologisch und pathologisch relevante Erkennungsprozesse verantwortlich sind.^[107,108,109] Aber Kohlenhydratstrukturen in Glycokonjugaten sind nicht nur an biologischen Erkennungsprozessen beteiligt. Bei Proteinen beeinflusst die Glycosylierung mitunter entscheidend deren Faltung und Stabilität und damit auch die Aktivität von Enzymen.^[110] Zudem kann sie zum Schutz vor Proteasen beitragen oder die Bindung von oder Antikörpern verhindern.^[111] Bei der heterologen Expression von Proteinen aus Tier- oder Pflanzenzellen zum Beispiel in *E. coli* zeigen diese zum Teil keine oder eine wesentlich geringere Aktivität, da die in Tier- und Pflanzenzellen üblichen posttranslationalen Modifikationen wie Phosphorylierung und Glycosylierung in *E. coli* nicht möglich sind.^[112,113]

Bei der Synthese von Oligosacchariden zur Untersuchung der biologischen Phänomene bereitet vor allem die Aufarbeitung der stark hydrophilen Produkte Probleme, insbesondere, wenn man auf

aufwendige Schutzgruppenoperationen verzichten will. Versieht man die Kohlenhydrate mit einer hydrophoben Markierung, ergeben sich eine ganze Reihe neuer Möglichkeiten für eine effiziente Aufarbeitung. Neben der Durchführung der Reaktionen zum Aufbau der Oligosaccharide als reversible Festphasensynthese lassen sich die Produkte auch über RP-Kieselgel chromatographisch aufreinigen. Die Trennung gestaltet sich auch an nicht derivatisiertem Kieselgel wesentlich einfacher, da keine stark wasserhaltigen Eluenten eingesetzt werden müssen.

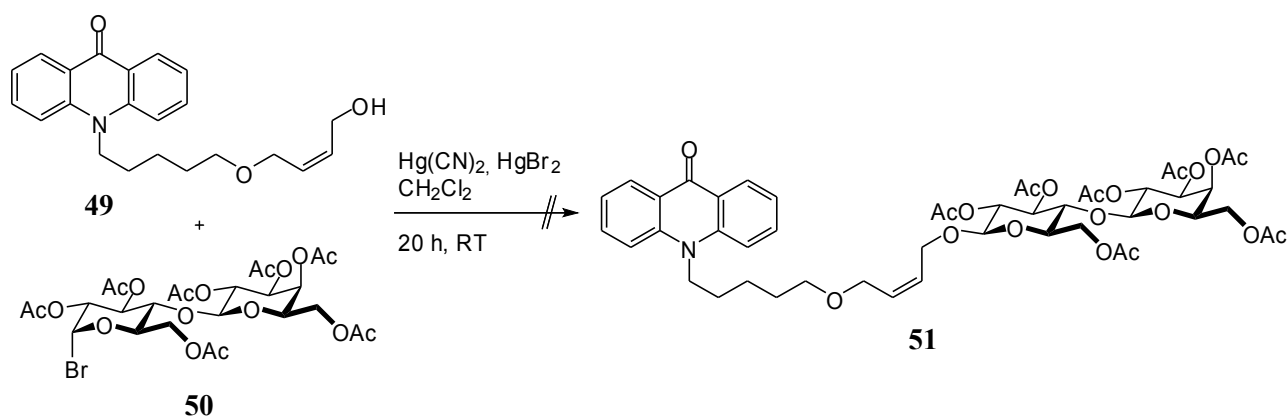
Um nach dem erfolgten Aufbau eines Oligosaccharids dieses wieder vom Anker trennen zu können, war die Einführung eines Linkers notwendig, der sich unter Bedingungen spalten lässt, die nicht auch gleichzeitig das gerade synthetisierte Oligosaccharid hydrolysieren. Hierzu wurde 10-(5-Brom-1-pentyl)-acridin-9(10*H*)-on (**45**) mit (*Z*)-2-Buten-1,4-diol in THF mit Natriumhydrid als Base umgesetzt, wobei 10-[5-(4-Hydroxy-(*Z*)-2-buten-1-yloxy)-1-pentyl]-acridin-9(10*H*)-on (**49**) in einer Ausbeute von 48 % erhalten wurde. Der Linker wird am Ende einer Reaktionssequenz über Ozonolyse gespalten.



Schema 30: Alyklierung von (*Z*)-2-Buten-1,4-diol mit 10-(5-Brom-1-pentyl)-acridin-9(10*H*)-on (**45**).

Die Anbindung der Zuckerkomponente erfolgte exemplarisch mit Lactose. In ersten Experimenten wurde die Möglichkeit der Anbringung des hydrophoben Ankers über eine Glykosidierung nach Helferich untersucht.^[114] Hepta-*O*-acetyl- γ -D-lactosylbromid (**50**) wurde hierzu mit dem Alkohol **49** in Dichlormethan unter Zusatz von Quecksilbercyanid und -bromid umgesetzt. Nach 20 h bei RT konnte keinerlei Umsatz beobachtet werden. Sowohl der Alkohol **49** als auch die Zuckerkomponente **50** lagen unverändert in der Reaktionsmischung vor. Da es hier nicht zweckmäßig war, wie bei Helferich-Reaktionen üblich, den Alkohol im Überschuss einzusetzen, war eine Verringerung der Ausbeute zu erwarten. Ursache für das Ausbleiben jeglicher Umsetzung in diesem Fall könnten intramolekulare Wechselwirkungen zwischen Hydroxylgruppe und der Carbonylgruppe des Acridons sein, wodurch die Hydroxylgruppe abgeschirmt und die Reaktion mit der Zuckerkomponente erschwert wird. Auffällig ist auch, dass der maximal erreichbare Umsatz offenbar mit steigender Größe des Alkohols abnimmt (s. auch Kapitel 3.6.2). Ursächlich kann aber

nicht die Größe des Alkohols für eine Verschlechterung des Umsatzes verantwortlich sein, zumal es sich bei den verwendeten Alkoholen **49** und **52** um sterisch nicht gehinderte, primäre Alkohole handelt.

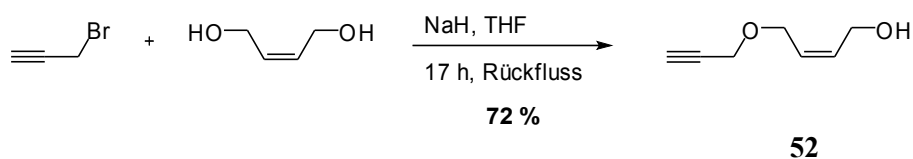


Schema 31: Helferich-Reaktion von Hepta-O-acetyl- γ -D-lactosylbromid (**50**) mit 10-[5-(4-Hydroxy-2-buten-1-yloxy)-1-pentyl]-acridin-9(10H)-on (**49**).

3.6.2 Anbindung mittels „Click“-Chemie

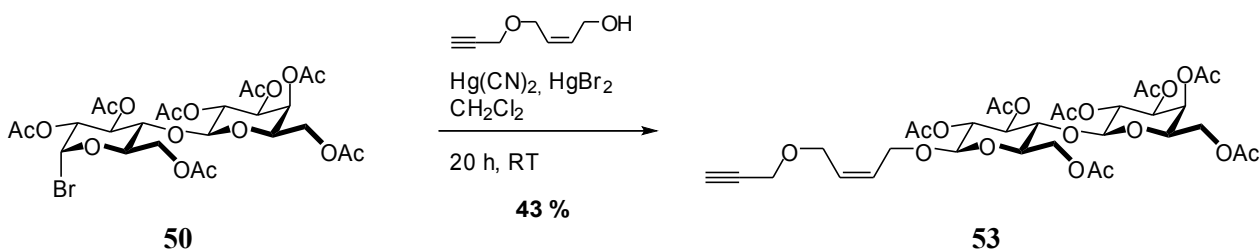
Da es sich sowohl bei dem Anker als auch bei dem Substrat um relativ wertvolle Verbindungen handelt, sind Reaktionen von besonderem Interesse, die vollständigen Umsatz liefern, auch ohne dass einer der beiden Reaktionspartner im Überschuss eingesetzt werden muss. Die Umsetzung von Alkinen mit Aziden unter Kupfer(I)-Katalyse zu 1,2,3-Triazolen nach dem Prinzip der „Click“-Chemie^[90] gelingt nicht nur mit dem geforderten hohen Umsatz, sie verläuft zudem chemo- und regiospezifisch, so dass keine Nebenprodukte auftreten. Die Reaktion wird darüber hinaus in wässrigen Lösungsmittelgemischen durchgeführt^[115], was dem Konzept der reversiblen Festphasensynthese zugute kommt. Zu beachten ist lediglich, dass 1,2,3-Triazole sehr stabil sind und sich nur unter drastischen Bedingungen spalten lassen (z. B. Oxidation bei hohen Temperaturen). Da die meisten Produkte eine Abspaltung nicht überstehen würden, musste eine leichter spaltbare „Sollbruchstelle“ eingeführt werden. Wie auch schon bei der Helferich-Reaktion wurde dazu auf (Z)-2-Buten-1,4-diol zurückgegriffen, dessen Doppelbindung sich zur Trennung vom Anker über Ozonolyse spalten lässt.

(Z)-2-Buten-1,4-diol wurde zunächst mit Propargylbromid zum Monoether **52** in einer Aubeute von 72 % umgesetzt. 4-(2-Propinyloxy)-(Z)-2-buten-1-ol (**52**) kann dann über eine Helferich-Reaktion mit der Zuckerkomponente gekuppelt werden.



Schema 32: Synthese von 4-(2-Propynyloxy)-(Z)-2-buten-1-ol (**52**).

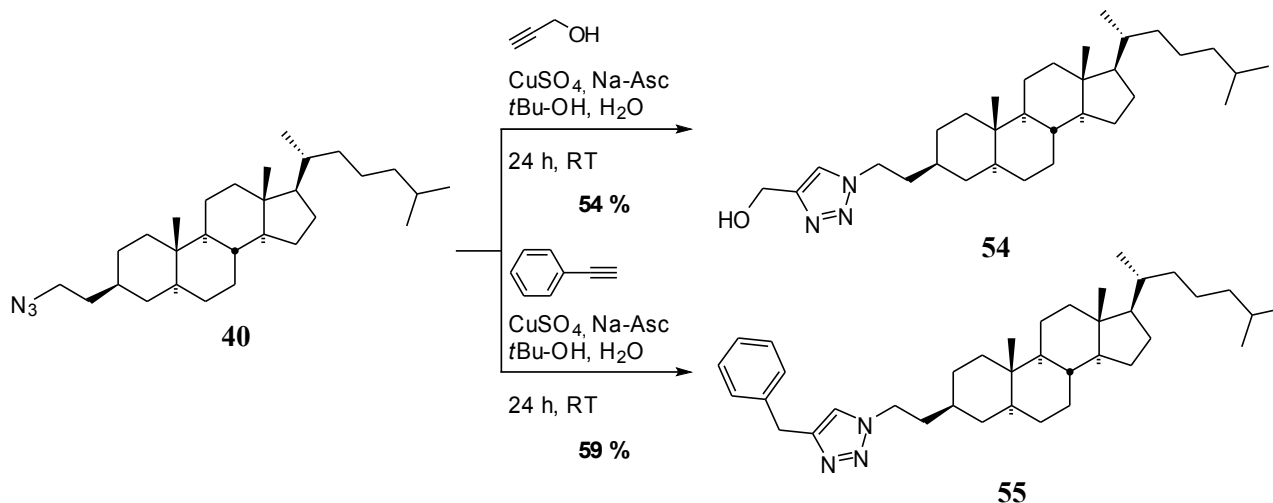
Bei der anschließenden Helferich-Reaktion wurde der Alkohol **52** in 20 prozentigem Überschuss eingesetzt. Ansonsten entsprachen die Bedingungen denen für die Reaktion mit dem Acridon-Anker **49**. Auch hier blieb die Ausbeute mit 43 % hinter den Ausbeuten zurück, die bei der Reaktion mit einfachen primären Alkoholen erzielt werden können. Auch ein größerer Überschuss des Alkohols **52** verbesserte den Umsatz nicht wesentlich. Eine Untersuchung der Ursachen für die schlechten Umsätze bei den Helferich-Reaktionen, die mit den Alkoholen **49** und **52** durchgeführt wurden, steht noch aus.



Schema 33: Helferich-Reaktion von Hepta-O-acetyl-γ-D-lactosylbromid (**50**) mit 4-(2-Propynyloxy)-(Z)-2-buten-1-ol (**52**).

Um die Reaktionsbedingungen zu optimieren und vor allem auch die Löslichkeit des Cholesterolankeers im wässrigen Reaktionsmedium zu untersuchen, wurden Vorversuche zur „Click“-Reaktion mit 1-Azido-2-(5γ-cholestan-3δ-yl)-ethan (**40**) durchgeführt. Als Alkine kamen Propargylalkohol und Phenylacetylen zum Einsatz. Die übrigen Reaktionsbedingungen entsprachen denen diverser Literaturvorschriften^[115,116] mit Erzeugung des Cu(I)-Katalysators *in situ*. Die Ausbeute betrug sowohl für [1-(2-(5γ-Cholestan-3δ-yl)-ethyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl]-methanol (**54**) als auch für [1-(2-(5γ-Cholestan-3δ-yl)-ethyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl]-methanol (**55**) um 55 %. Bei „Click“-Reaktionen ist zu beachten, dass die Kohlenstoff- und Wasserstoffsignale des Triazols im Roh-NMR ohne zusätzliche Aufarbeitung nicht zu sehen sind, da das als Katalysator eingesetzte Kupfer Komplexe mit den Stickstoffatomen des Triazols bildet. Aufgrund der paramagnetischen Natur von Cu(II) bewirkt dieses in seiner direkten Umgebung eine starke Verkürzung der Relaxationszeiten, was in einer erheblichen Verbreiterung der Signale resultiert. Die Anwesenheit

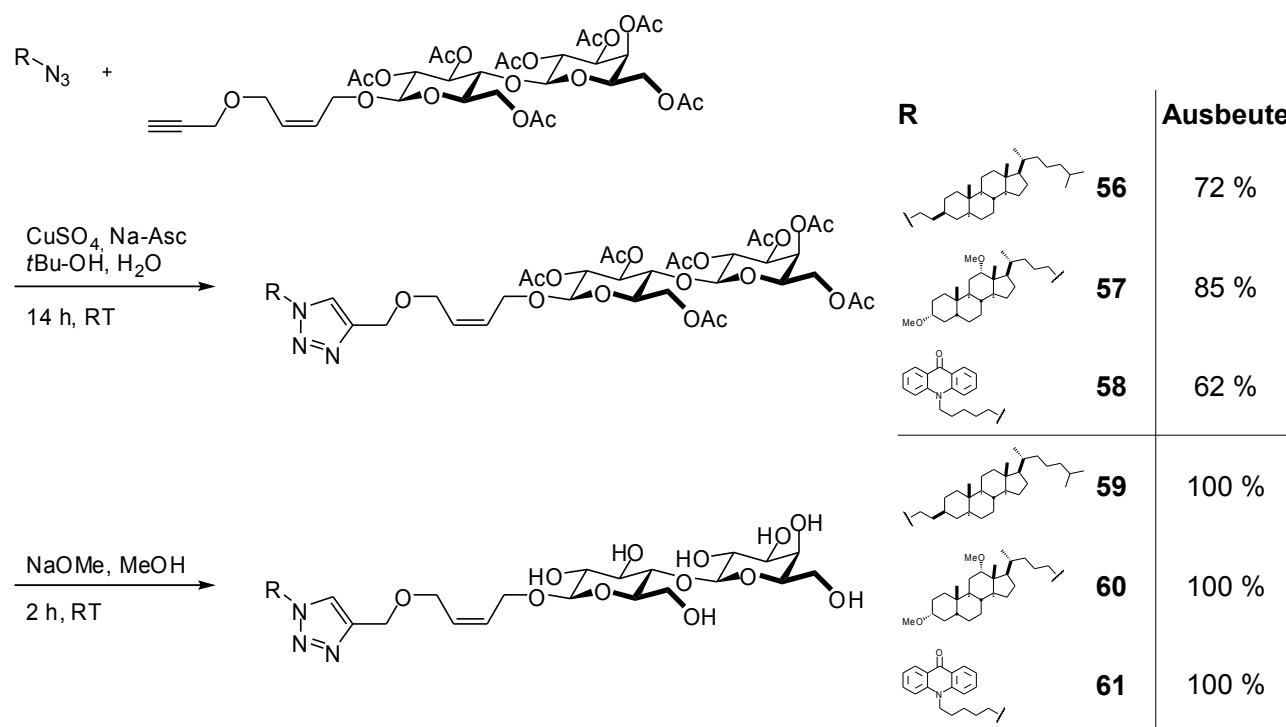
von wenigen Molprozent Cu(II) war ausreichend, um die NMR-Signale vollständig verschwinden zu lassen. Zur Entfernung der Kupferspuren genügte eine Filtration über Kieselgel.



Schema 34: „Click“-Reaktion mit 1-Azido-2-(5 γ -cholestan-3 δ -yl)-ethan (**40**).

Die Reaktionen der drei Ankermoleküle mit dem Alkin **53** wurden auf herkömmliche Art und Weise in flüssiger Phase durchgeführt, da zumindest beim Acridonanker mit Ausbeuteverlusten beim Waschen der Festphase gerechnet werden musste. Die Stärke der Bindung von Desoxycholsäure- und Cholesterolanker war noch nicht hinreichend untersucht, um Verluste ausschließen zu können. Darüber hinaus sollten die Produkte auch für weitergehende HPLC- und Biacore-Messungen zum Vergleich der Bindungsstärke zur Festphase verwendet werden. Um die hierfür notwendige Reinheit der Produkte zu erreichen, war eine chromatographische Aufarbeitung notwendig, die mit den geschützten Lactosederivaten einfacher durchzuführen war. Gegenüber den Vorversuchen wurde die Menge an eingesetztem Katalysator auf 10 mol-% CuSO_4 bzw. 40 mol-% Ascorbinsäure erhöht, um den Umsatz zu verbessern. Da alle Edukte nur wenig polar waren, erfolgten die Umsetzungen in *tert.*-Butanol/Wasser 6:1 (v/v).

Die „Click“-Reaktionen ergaben gute Ausbeuten zwischen 62 und 85 %. Die höchste Ausbeute wurde mit 85 % für das Desoxycholsäurederivat **57** erzielt. Für das an Cholestan gebundene Lactosid **56** konnte noch eine Ausbeute von 72 % erreicht werden. Mit 62 % fiel die Ausbeute für das Acridonderivat **58** am niedrigsten aus. Die anschließende Entschützung nach G. Zemplen^[17] mit Natriummethanolat in Methanol lieferte alle drei Produkte **59**, **60** und **61** in 100 prozentiger Ausbeute.



Schema 35: Koordination von Lactose an die verschiedenen Ankermoleküle mittels „Click“-Reaktion.

3.6.3 Anbindung mittels Metathese

Eine andere Möglichkeit Substrate mit einem Anker zu verknüpfen, ist die Kreuzmetathese^[118,119]. Die hierfür benötigten Funktionalitäten – endständige Doppelbindungen bei Substrat und Anker – lassen sich ähnlich leicht einführen wie das Azid bzw. Alkin für die „Click“-Reaktion. Als Zuckerkomponente fand Allyl-hepta-O-acetyl- δ -D-lactosid (**62**) Verwendung. Als Anker kamen drei Acridonverbindungen mit elektronisch unterschiedlichen, endständigen Doppelbindungen zum Einsatz: das Pentenylacridon

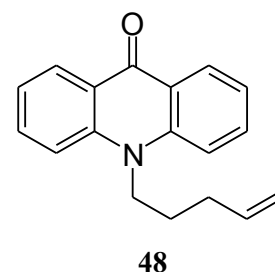
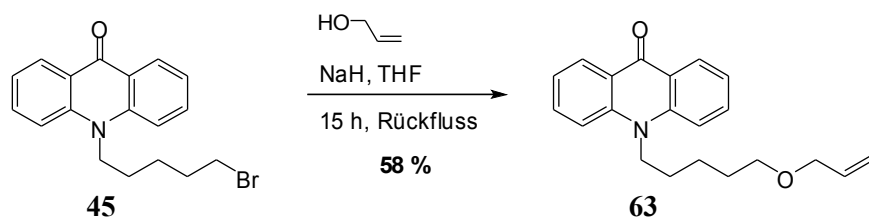


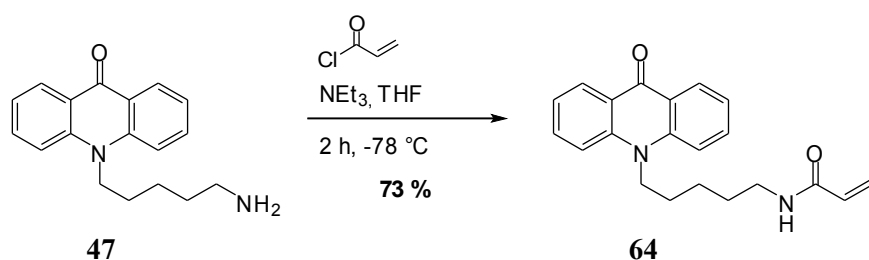
Abb. 22: 10-(4-Penten-1-yl)-acridin-9(10H)-on.

48, der Allylether **63** und Acrylamid **64**. **48** fiel bei der Synthese von 10-(5-Brom-1-pentyl)-acridin-9(10H)-on (**45**) als Nebenprodukt an. Die Umsetzung des Bromids **45** mit Allylalkohol in THF und NaH als Base ergab den Ether **63** in einer nicht optimierten Ausbeute von 58 %.



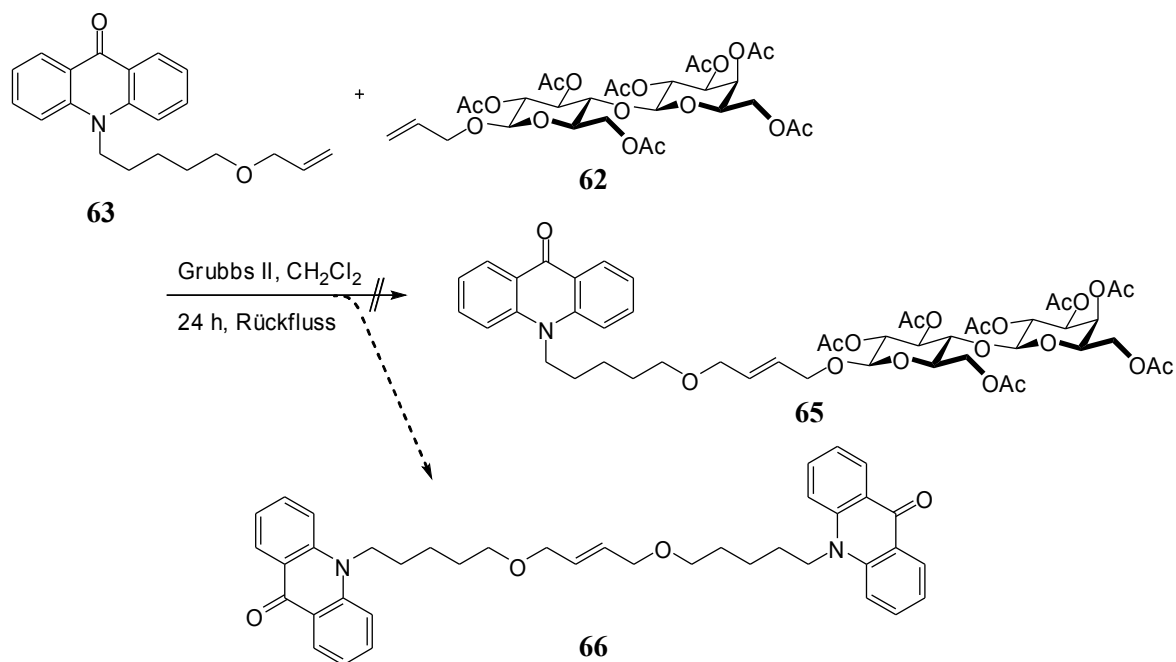
Schema 36: Alkylierung von Allylalkohol mit 10-(5-Brom-1-pentyl)-acridin-9(10H)-on (**45**).

Durch Umsetzung des Amids **47** mit Acrylsäurechlorid wurde das elektronenarme Alken **64** in einer Ausbeute von 73 % erhalten. Erste Versuche bei 0 °C zeigten aufgrund der stark exothermen Reaktion noch die Bildung von Nebenprodukten, die die Aufreinigung des Produktes erschwerten. Durch Kühlung mit Aceton/Trockeneis auf -78 °C konnten Nebenreaktionen weitgehend unterdrückt werden.



Schema 37: Synthese von 10-(N-Acryloyl-5-aminopentyl)-acridin-9(10H)-on (**64**).

Erste Experimente zur Kreuzmetathese erfolgten mit dem Ether **63** sowie dem Lactosid **62** unter in der Literatur^[120,121] beschriebenen üblichen Bedingungen in Dichlormethan unter Rückfluss mit dem Grubbs-Katalysator der zweiten Generation. Nach chromatographischer Trennung des Produktgemisches wurde das erwartete Kreuzprodukt **65** jedoch nicht erhalten, lediglich ein Großteil des eingesetzten Eduktes **63** wurde zurückgewonnen neben 13 % des Homokupplungsproduktes **66**.

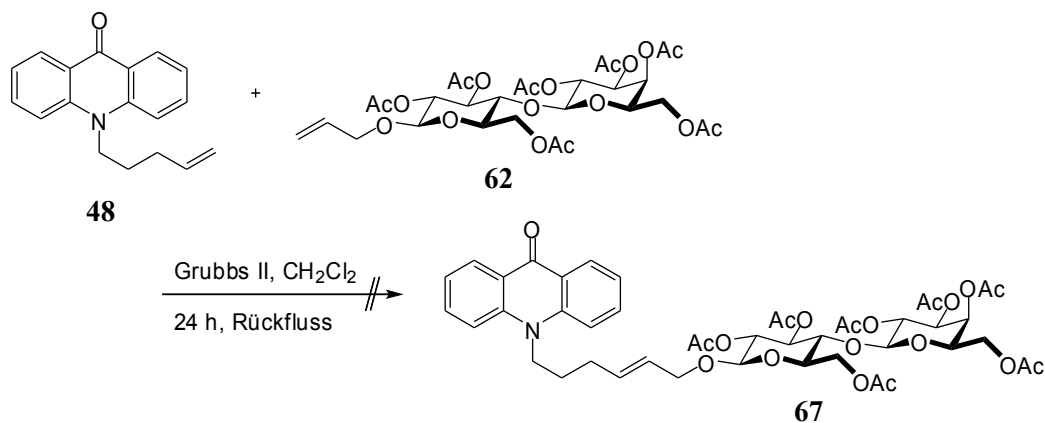


Schema 38: Versuchte Kreuzmetathese zwischen 10-(5-Allyloxy-1-pentyl)-acridin-9(10H)-on (**63**) und Allyl-hepta-O-acetyl- δ -D-lactosid (**62**).

Bei der Aufbewahrung des „Dimers“ **66** zeigte sich, dass bei unvollständiger Entfernung des Metathesekatalysators eine langsame Zersetzung des Produktes eintritt. Eine chromatographische Aufarbeitung reichte für das Abtrennen der Rutheniumverbindungen allein nicht aus, da diese, wenn auch nur in Spuren, mit dem Produkt coeluieren. Durch Zusatz von Oxidationsmitteln wie DMSO oder Triphenylphosphinoxid^[122], Blei(IV)-acetat^[123] oder Tris-(hydroxymethyl)-phosphin^[124] kann der Katalysatorkomplex zerstört und so das Ruthenium über chromatographische Verfahren oder im Falle von Tris-(hydroxymethyl)-phosphin extraktiv entfernt werden. Aufgrund seiner Giftigkeit schied eine Verwendung von Blei(IV)-acetat aus. Tris-(hydroxymethyl)-phosphin ist teuer und das Verfahren zum Abtrennen des Katalysators verglichen mit den anderen Methoden aufwendig. Entsprechend wurde der Reaktionsmischung vor der chromatographischen Aufarbeitung vorzugsweise DMSO bzw. Triphenylphosphinoxid zugesetzt. In beiden Fällen konnten weder (stark gefärbte) Rutheniumverbindungen im Produkt nachgewiesen, noch konnte eine Zersetzung des Produktes beobachtet werden.

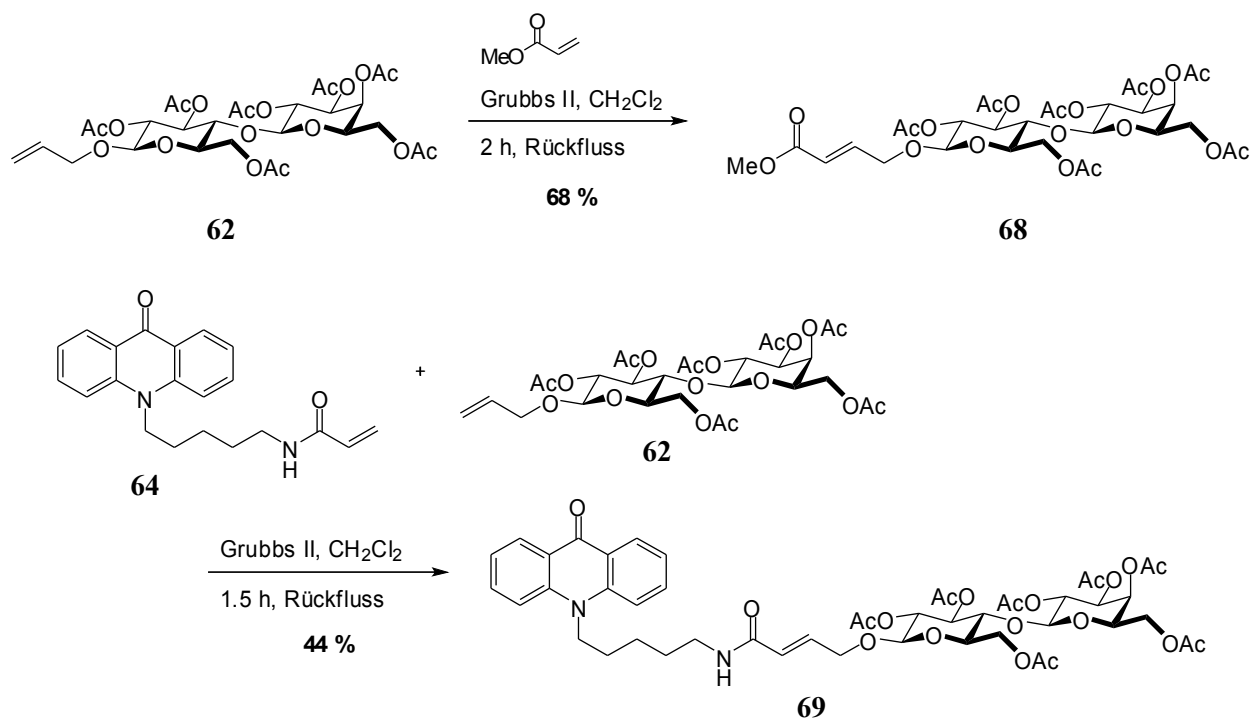
Da bei der Kreuzmetathese die relative Elektronendichte der beteiligten Alkene eine entscheidende Rolle spielt, wurden Versuche zur Umsetzung des bei der Alkylierung von Acridon als Nebenprodukt anfallenden, elektronenreicheren Alkens **48** mit dem Allylglycosid **62** unternommen.

Unter den gleichen Reaktionsbedingungen wie zuvor fand hier keinerlei Reaktion statt. Auch Homokupplungsprodukte der einzelnen Reaktionspartner konnten nicht identifiziert werden.



Schema 39: Kreuzmetathese zwischen 10-(4-Penten-1-yl)-acridin-9(10H)-on (**48**) und Allyl-hepta-O-acetyl- δ -D-lactosid (**62**).

Bei den bisher eingesetzten Acridonderivaten **48** und **63** weisen die Doppelbindungen eine ähnliche Elektronendichte auf wie die Doppelbindung des Allylglycosids **62**. Die für die folgenden Experimente eingesetzten Acrylsäurederivate sind aufgrund der negativen induktiven und mesomeren Effekte deutlich elektronenärmer, was die gewünschte Metathesereaktion begünstigt. In der Tat zeigten Vorversuche mit Acrylsäuremethylester unter ansonsten unveränderten Bedingungen bereits nach zwei Stunden vollständigen Umsatz. Nach Zerstörung des Katalysatorkomplexes mit DMSO und chromatographischer Aufarbeitung konnte 68 % (*E*)-4-(Hepta-O-acetyl- δ -D-1-lactosyl)-2-butensäuremethylester (**68**) isoliert werden. Analog verlief die Reaktion mit dem Acridonderivat **64**: Nach 1.5 Stunden war die Reaktion beendet und ergab das Heterokupplungsprodukt **69** in einer Ausbeute von 44 %. Die im Vergleich zu **68** niedrigere Ausbeute ist auf Verluste bei der chromatographischen Aufarbeitung des relativ polaren Amids zurückzuführen.



Schema 40: Kreuzmetathese zwischen Allyl-hepta-O-acetyl- δ -D-lactosid (**62**) und Acrylsäuremethylester (oben) bzw. 10-(N-Acryloyl-5-aminopentyl)-acridin-9(10H)-on (**64**) (unten).

Neben einer Optimierung der Aufarbeitung ist eine weitere Steigerung der Ausbeuten durch Verbesserungen der Reaktionsführung möglich. Die eingesetzten Acrylamide neigen zur Polymerisation, was unter den Reaktionsbedingungen zu Nebenprodukten führt. Hier besteht die Möglichkeit, die Reaktion bei niedrigeren Temperaturen durchzuführen oder einen Radikalfänger zuzusetzen.

3.6.4 Zusammenfassende Betrachtung

Von den drei in diesem Kapitel untersuchten Reaktionen eignen sich nur zwei zur routinemäßigen Anbindung von Zuckersubstraten: die „Click“-Reaktion von Propargylglycosiden und die Metathese mit Allylglycosiden. Auch wenn bei der Helferich-Reaktion durch Optimierung der Bedingungen doch noch eine Umsetzung erreicht werden könnte, sprechen doch der hohe Synthesaufwand und der Einsatz schwermetallhaltiger Reagenzien in stöchiometrischen Mengen gegen diese Methode.

Als Vorteile der Metathesereaktion sind die leichte Spaltbarkeit und, bei Spaltung durch Metathese mit Ethen, die gute Wiederverwendbarkeit des Ankermaterials zu sehen. Zudem sind die benötigten endständigen Alkene leicht sowohl in das Substrat als auch in das Anker-molekül einzuführen. Lediglich die Aufbewahrung des für die Metathesereaktion benötigten Acrylamids (Ester wären

unter vielen Reaktionsbedingungen nicht ausreichend stabil) wird durch dessen Neigung zur Polymerisation vor allem unter Lichteinwirkung erschwert. Um die Stärke der Bindung zur Festphase einschätzen zu können, wurden die R_f -Werte auf Kieselgel herangezogen. Demzufolge besitzt die Amidbindung einen maßgeblichen Einfluss auf die Gesamtpolarität der Anker-Substrat-Einheit. Die Polarität von **69** ist hierbei wesentlich höher als für das mittels „Click“-Reaktion hergestellte **58**. Auch nach dem Entschützen wies **61** noch einen höheren R_f -Wert auf als das peracetylierte **69** (s. Tabelle 4). Die Bindung an die Festphase sollte demzufolge für die mittels Metathesereaktion gebundenen Substrate wesentlich schlechter ausfallen.

Tabelle 4: Vergleich der R_f -Werte der Triazole **58** und **61** mit dem Amid **69**.

	R_f -Wert	
	CHCl ₃ :MeOH = 20:1	CH:EE = 1:4
Amid 69 (peracetyliert)	0.24	0.00
Triazol 58 (peracetyliert)	0.95	0.46
Triazol 61	0.86	0.06

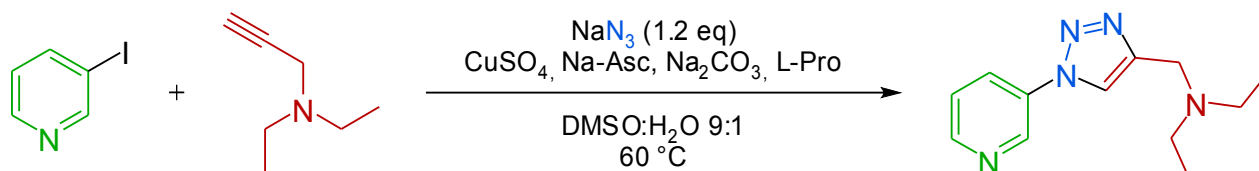
Bei den bei der „Click“-Reaktion entstehenden basischen Triazolen wurde vermutet, dass sich mit sauren Substraten Ionenpaare bilden können, die die Bindung zur Festphase negativ beeinflussen. Aufgrund der hohen Polarität der Amidbindung sollten sie dennoch die bessere Alternative darstellen. Darüber hinaus besitzt diese Methode noch weitere Vorteile. Die beteiligten funktionellen Gruppen – das Alkin und das Azid – sind relativ stabil, so dass eine Aufbewahrung des mit der entsprechenden Funktionalität versehenen Substrates bzw. Ankermaterials problemlos möglich ist. Die „Click“-Reaktion zur Anbindung ist äußerst selektiv, so dass andere funktionelle Gruppen nicht stören. Zudem werden ausschließlich preiswerte Chemikalien benötigt. Von Nachteil ist lediglich die schon zuvor diskutierte schlechte Spaltbarkeit des Triazols, die durch Einführung einer zusätzlichen Doppelbindung kompensiert werden musste.

3.7 Synthese von Triazolen über Tandemreaktion

3.7.1 Einleitung

Über die „Click“-Reaktion lassen sich 1,2,3-Triazole leicht und in hohen Ausbeuten synthetisieren.^[116,125] Die dafür notwendigen Azide müssen zuvor in einem zusätzlichen Syntheseschritt hergestellt und aufgearbeitet werden. Die meisten organischen Azide sind zwar

relativ stabil, kleine Moleküle mit mehreren Azidfunktionen können jedoch durchaus instabil und dementsprechend schwierig in ihrer Handhabung sein.^[126,127] Die Azidfunktion selbst zersetzt sich mit der Zeit durch Einwirkung von Licht oder Hitze, so dass eine längerfristige Aufbewahrung nicht unproblematisch ist. Hier stellt die Erzeugung der Azide *in situ* eine interessante Alternative dar, wodurch nicht nur der zusätzliche Aufarbeitungsschritt wegfällt, sondern auch eine Lagerung der Azide unnötig wird. Frühere Arbeiten auf diesem Gebiet befassten sich schwerpunktmäßig mit der Substitution von Alkyl- oder Arylhalogeniden mit anschließender 1,3-dipolarer Cycloaddition des Alkins in einer 1-Topf-Reaktion. A. K. Feldman et al.^[127] generierten die organischen Azide durch Substitution des Iods in Aryl- und Vinyljodiden (s. Schema 41). Auch Alkyl- und Benzylhalogenide^[128] und Bromglycoside^[129] wurden bereits erfolgreich in Tandemreaktionen dieser Art eingesetzt.



Schema 41: Beispiel für eine 1-Topf-Reaktion.^[127]

Bislang nicht untersucht wurde die Möglichkeit, die organischen Azide *in situ* durch Michael-Addition von Azid an γ,δ -ungesättigte Carbonylverbindungen herzustellen. Die Michael-Addition von anorganischem Azid ist literaturbekannt – als prominentes Beispiel sei die Synthese des in der HIV-Therapie eingesetzten Reverse-Transkriptase-Hemmers Azidothymidin (AZT) genannt.^[130] Die Produkte neigen jedoch meist zur Eliminierung von Stickstoffwasserstoffsäure, was sowohl die isolierbare Ausbeute beschränkt als auch eine Lagerung erschwert. Eine direkte Umsetzung zum 1,2,3-Triazol in einer Tandemreaktion würde zu einem stabilen Produkt führen und damit die Rückreaktion der reversiblen Michael-Addition verhindern. Dadurch sollten auch bei der vorgelagerten Additionsreaktion höhere Ausbeuten möglich sein.

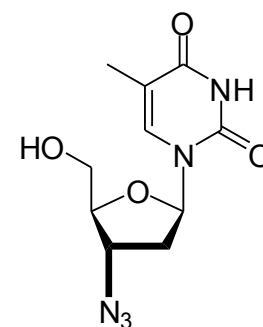


Abb. 23: AZT.

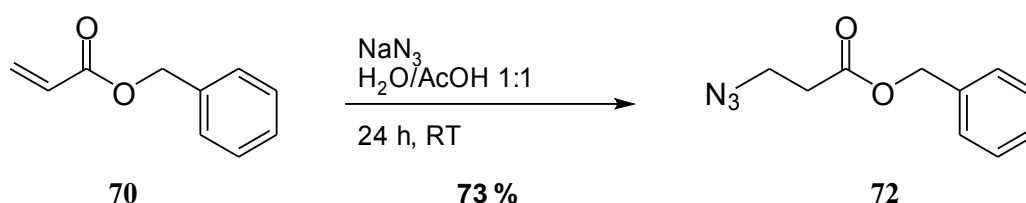
Die Bedingungen, bei denen die Michael-Addition üblicherweise durchgeführt wird, sprechen für eine Kompatibilität mit der „Click“-Reaktion. Als Azidquelle wird Natriumazid in wässriger Essigsäure eingesetzt, um die für die Reaktion nötige Stickstoffwasserstoffsäure zu generieren.^[131,130,132] Zur Aktivierung der Carbonylverbindung kann zusätzlich Triethylamin in katalytischen

Mengen zugegeben werden.^[133] Lediglich der benötigte hohe Überschuss an anorganischem Azid könnte in einer Nebenreaktion zur Bildung von N-H-Triazolen führen. Andere Experimente, in denen die Cycloaddition als Teil einer Eintopfreaktion mit überstöchiometrischem Natriumazidanteil durchgeführt wurde, deuteten jedoch darauf hin, dass anorganisches Azid nicht an der kupferkatalysierten Reaktion teilnimmt.^[48]

3.7.2 Michael-Addition

Zur Anpassung der Michael-Addition an die Bedingungen der „Click“-Reaktion mussten zunächst geeignete Modellverbindungen ausgewählt werden, die nicht nur leicht zugänglich sind, sondern auch eine einfache Reaktionskontrolle mittels DC erlauben. Die Wahl fiel auf Acrylsäurebenzylester (**70**) und 2-Cyclohexen-1-on (**71**). Beide Verbindungen weisen einen Siedepunkt auf, der hoch genug ist, um quantifizierbare Dünnschichtchromatogramme erstellen zu können. Acrylsäurebenzylester (**70**) ist darüber hinaus UV-aktiv, so dass ein Anfärben nicht notwendig ist.

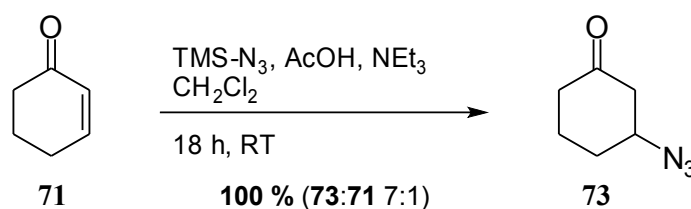
Für Acrylsäurebenzylester (**70**) konnte mit 1.5-fachem Überschuss an Natriumazid in 50 prozentiger Essigsäure im Verlauf von mehreren Tagen Umsatz beobachtet werden.^[131] Nach chromatographischer Aufarbeitung wurden 73 % 3-Azidopropionsäurebenzylester (**72**) erhalten, der unter anderem mit Benzylalkohol verunreinigt war. Da der Acrylsäureester unter den Reaktionsbedingungen offenbar partiell hydrolysiert, war er für die weiteren Experimente ungeeignet.



Schema 42: Michael-Addition von Azid an Acrylsäurebenzylester (**70**).

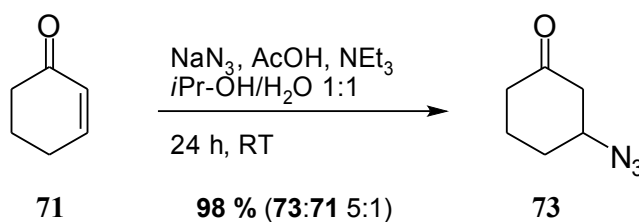
Erste Versuche mit 2-Cyclohexen-1-on (**71**) zeigen auch nach mehreren Tagen auf dem DC keinerlei Umsatz. Durch Nachdosieren von Natriumazid und Essigsäure und Erhöhung der Reaktionstemperatur wurde keine Verbesserung erzielt. Auch der Zusatz von Triethylamin oder DBU zur Aktivierung der Carbonylverbindung führte zu keinem sichtbaren Erfolg. Dass das Keton **71** überhaupt nicht umgesetzt wird, erschien unwahrscheinlich, so dass die Ergebnisse der Reaktionskontrolle angezweifelt wurden. Es stand jedoch kein 3-Azido-cyclohexan-1-on (**73**) als

Vergleichssubstanz zur Verfügung, um dessen Lauf- und Färbereigenschaften auf dem DC zu untersuchen. Zur Synthese des Azids **73** wurde 2-Cyclohexen-1-on (**71**) nach einer Vorschrift von D. J. Guerin et al.^[134] unter wasserfreien Bedingungen mit Trimethylsilylazid (TMS-Azid) umgesetzt. Die in der Literatur beschriebenen Umsätze und Ausbeuten sind hierbei höher als bei der analogen Reaktion im wässrigen Milieu. Zudem erschien eine Retro-Michael-Reaktion in Konkurrenz zur Addition weniger wahrscheinlich. Nach 18 h Rühren bei RT färbte der Eduktfleck auf dem DC mit Anisaldehydreagenz nicht mehr violett sondern rot, was auf die Anwesenheit eines gesättigten Ketons hinwies. Nach extraktiver Aufarbeitung wurde ein Gemisch von 3-Azido-cyclohexan-1-on (**73**) als Hauptprodukt und dem Edukt **71** erhalten. Aus den ¹³C-NMR-Daten ergab sich ein Verhältnis von **73:71** von etwa 7:1.



Schema 43: Michael-Addition von TMS-Azid an 2-Cyclohexen-1-on (**71**).

Mit Hilfe des synthetisierten Azids **73** war nun die Suche nach einem geeigneten Laufmittel möglich. In reinem Essigester zeigten **71** und **73** einen hinreichenden Unterschied ihrer *R_f*-Werte, um eine effiziente Reaktionskontrolle und damit eine Optimierung der Reaktionsbedingungen für das wässrige System durchführen zu können. Als optimal erwies sich ein fünffacher Überschuss an Natriumazid und eine entsprechende Menge Essigsäure im Lösungsmittel 2-Propanol/Wasser 1:1 (v/v). Durch Zusatz von Triethylamin oder DBU konnte zwar keine Verbesserung des Umsatzes, jedoch eine drastische Verkürzung der Reaktionszeit erreicht werden. Weiterhin zeigte sich, dass die Reihenfolge, in der die Reagenzien zusammengegeben werden, einen entscheidenden Einfluss auf den Reaktionsverlauf hat. Wird insbesondere 2-Cyclohexen-1-on (**71**) nicht zum Schluss zugegeben, entstehen innerhalb weniger Minuten Nebenprodukte, was dünnschichtchromatographisch und auch anhand einer Farbveränderung der Reaktionsmischung zu beobachten ist. Bei der Aufarbeitung ist zu beachten, dass die Essigsäure nicht durch Waschen mit gesättigter NaHCO₃-Lösung entfernt werden kann, da dies zur sofortigen Eliminierung von Stickstoffwasserstoffsäure zum γ,δ -ungesättigten Keton **71** führt. Auch hier konnte das Azid **73** nur im Gemisch mit dem Keton **71** erhalten werden. Das aus NMR-Daten ermittelte Verhältnis von **73:71** lag hier bei 5:1.



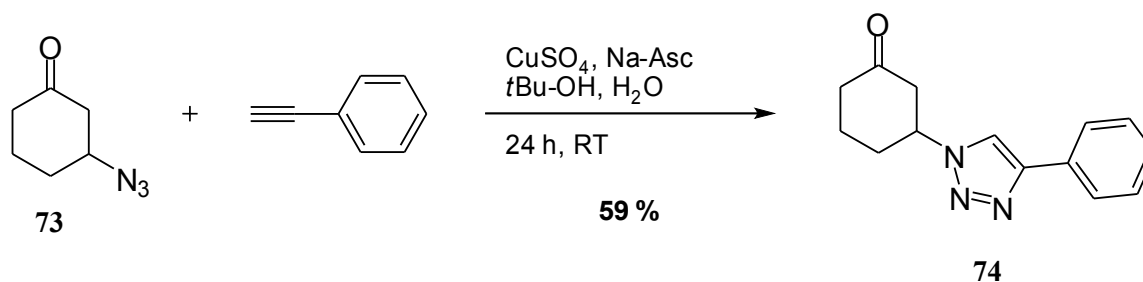
Schema 44: Michael-Addition von Azid an 2-Cyclohexen-1-on (**71**) im Wässrigen.

Das Produkt **73** ließ sich auch durch chromatographische Aufreinigung nicht rein erhalten. Bereits während der Trennung fand die Abspaltung von Stickstoffwasserstoffsäure in einer Retro-Michael-Reaktion statt, so dass auch das vom Edukt getrennte Azid **73** wieder 2-Cyclohexen-1-on (**71**) enthielt.

3.7.3 „Click“-Reaktion

Um zu verifizieren, dass eine „Click“-Reaktion auch unter den sauren Bedingungen der Michael-Addition möglich ist, wurde das bereits erfolgreich eingesetzte 1-Azido-2-(5 γ -cholestan-3 δ -yl)-ethan (**40**) mit Phenylacetylen unter Zusatz verschiedener Säuren umgesetzt. Im Einzelnen kamen hier Essigsäure, Ascorbinsäure und Ammoniumsulfat/Schwefelsäure bei einem pH-Wert von etwa 2 zum Einsatz. Die Reaktionen wurden sowohl in *tert.*-Butanol/Wasser 1:1 (v/v) als auch in 2-Propanol/Wasser 1:1 (v/v) als Lösungsmittel durchgeführt. In keinem Fall konnte eine signifikante Verschlechterung des Umsatzes beobachtet werden.

Um die Reaktivität sekundärer Azide bezüglich kupferkatalysierter Cycloadditionen zu untersuchen, wurde ein Kontrollexperiment mit dem zuvor synthetisierten 3-Azido-cyclohexan-1-on (**73**) durchgeführt. Durch Reaktion mit Phenylacetylen unter Kupfer(I)-Katalyse wurde 3-(4-Phenyl-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-cyclohexan-1-on (**74**) in einer Ausbeute von 59 % erhalten.



Schema 45: Cycloaddition zwischen 3-Azido-cyclohexan-1-on (**73**) und Phenylacetylen.

3.7.4 Tandemreaktion

Nachdem die vorangegangenen Experimente eine prinzipielle Kompatibilität beider Teilreaktionen bestätigten, wurde die Möglichkeit untersucht, die Synthesen gemeinsam als Tandemreaktion durchzuführen. Hierfür wurden alle benötigten Reaktanden – also Natriumazid, Essigsäure, Triethylamin, Kupfer(II)-sulfat und Natriumascorbat – mit den Edukten 2-Cyclohexen-1-on (**71**) und Phenylacetylen in *tert.*-Butanol/Wasser 1:1 (v/v) zusammengebracht. Nach 24 h wurden die polaren Bestandteile durch Extraktion und Filtration über Kieselgel entfernt und das Produktgemisch NMR-spektroskopisch untersucht. Hierbei zeigte sich, dass zwar das Zwischenprodukt **73** entstanden war, die anschließende Cycloaddition zum Endprodukt **74** jedoch nicht stattgefunden hatte (s. Abb. 24). In der Literatur^[127] wird bei solchen Eintopfreaktionen die Bildung von N-H-Triazolen beschrieben, wenn die erste Reaktion zum organischen Azid nur langsam erfolgt. Ähnliches wurde im vorliegenden Fall jedoch nicht beobachtet.

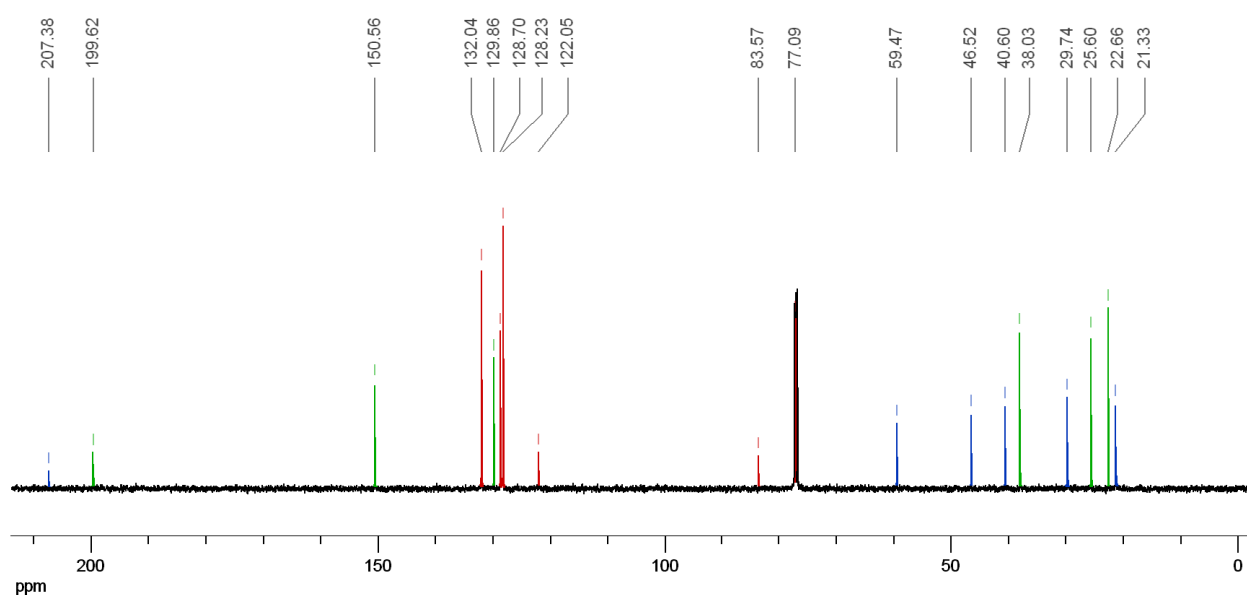


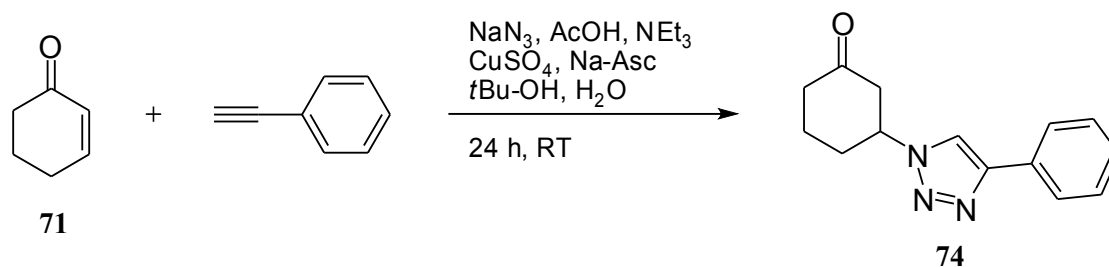
Abb. 24: ^{13}C -NMR-Spektrum der Tandemreaktion: 2-Cyclohexen-1-on (**71**, grün), 3-Azidocyclohexan-1-on (**73**, blau), Phenylacetylen (rot).

Da auch eine Variation der Reaktionsparameter Zeit und Temperatur nicht zum gewünschten Ergebnis führte, wurde der Einfluss von Natriumazid auf die Cycloaddition näher untersucht. Das schon zuvor verwendete 1-Azido-2-(5 γ -cholestan-3 δ -yl)-ethan (**40**) wurde mit Phenylacetylen unter Standardbedingungen umgesetzt, wobei der Reaktionsmischung zusätzlich noch Natriumazid zugesetzt wurde. Zur Kontrolle wurde eine zweite Reaktion ohne Natriumazid parallel durchgeführt. Der Zusatz von Natriumazid führte zu einem vollständigen Ausbleiben der

Cycloaddition, während die Referenzreaktion Umsatz zum Produkt **55** zeigte. Da sowohl hier als auch bei der Tandemreaktion keine Produkte aus Konkurrenzreaktionen, wie zum Beispiel die schon erwähnten N-H-Triazole, gefunden wurden, war von einer Inhibierung der Reaktion durch Natriumazid auszugehen. Ähnliche Beobachtungen machten auch V. O. Rodionov et al.^[135], die einen inhibierenden Effekt von im Überschuss eingesetztem Benzylazid feststellten.

Um den inhibierenden Einfluss weiter zu untersuchen und Möglichkeiten zu dessen Unterdrückung zu finden, wären detaillierte kinetische Messungen notwendig, die über den Rahmen dieser Arbeit hinausgehen. Die Inhibition sollte sich jedoch verringern lassen, indem weniger Äquivalente an Natriumazid eingesetzt werden, zumal Tandemreaktionen schon erfolgreich^[127,128,129] mit einem Äquivalent Natriumazid durchgeführt wurden. Die hierdurch zu erwartende Verringerung des Umsatzes der Michael-Addition sollte durch die Weiterreaktion des organischen Azides in der Cycloaddition abgefangen werden, so dass das Gleichgewicht insgesamt zur Produktseite hin verschoben würde. Es wurden verschiedene Versuche unternommen, die Michael-Addition mit niedrigerem Natriumazidanteil durchzuführen. Ein Umsatz zum Azid **73** konnte jedoch nicht beobachtet werden. Auch bei der Eintopfreaktion blieb die Bildung des organischen Azids aus. Experimente mit einem Äquivalent TMS-Azid unter wasserfreien Bedingungen – die Cycloaddition würde dann nach der Zugabe von Wasser in einem zweiten Reaktionsschritt durchgeführt – zeigten ebenfalls keinen Umsatz.

Zum Erfolg führte letztendlich die Erhöhung des Anteils an Kupfer(I)-Katalysator. Nach 24 h zeigte die Tandemreaktion mit einem Äquivalent Kupfersulfat/Natriumascorbat und wie zuvor fünf Äquivalenten Natriumazid/Essigsäure bezogen auf 2-Cyclohexen-1-on (**71**) im DC vollständigen Umsatz zum Azid **73**. Das DC zeigte zudem ein neues UV-aktives Produkt, dessen R_f -Wert dem des Triazols **74** entsprach. Nach Abtrennung des Katalysators konnte im NMR dann 3-(4-Phenyl-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-cyclohexan-1-on (**74**) im Gemisch mit dem Edukt **71** sowie dem Azid **73** nachgewiesen werden. Die Auswertung der Signalintensitäten im ¹³C-NMR ergab für **71:73:74** ein Verhältnis von etwa 1:4:2 (s. Abb. 25).



Schema 46: Tandemreaktion: **74** wurde im Gemisch mit den Zwischenprodukt **73** und dem Edukt **71** erhalten.

Der vergleichsweise niedrige Umsatz der Cycloaddition ist auf mehrere Faktoren zurückzuführen. Zum einen war das Reaktionsgemisch aufgrund der hohen Salzfracht heterogen, so dass eine optimale Durchmischung der einzelnen Komponenten nicht gegeben war. Dieses Problem ließe sich durch Vergrößerung der Lösungsmittelmenge oder auch eine andere Zusammensetzung des Lösungsmittelgemisches beseitigen. Zudem konnte nach 24 h kein Phenylacetylen mehr im Reaktionsgemisch nachgewiesen werden, was auf die Flüchtigkeit der Komponente zurückzuführen ist. Auch dieser Umstand führte zu einer Verringerung des erreichbaren Umsatzes.

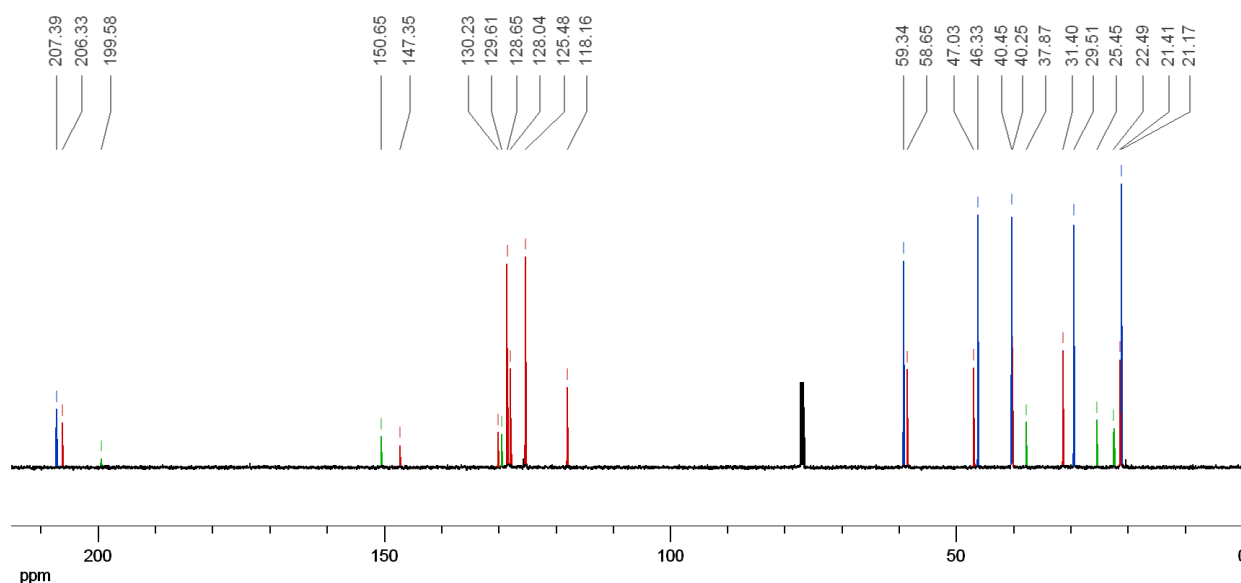


Abb. 25: ^{13}C -NMR-Spektrum der Tandemreaktion: 2-Cyclohexen-1-on (**71**, grün), 3-Azidocyclohexan-1-on (**73**, blau), 3-(4-Phenyl-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-cyclohexan-1-on (**74**, rot).

Darüber hinaus lassen sich noch weitere Optimierungen an der Reaktionsführung durchführen. Zunächst wäre die für akzeptable Reaktionsgeschwindigkeiten notwendige Katalysatormenge zu bestimmen, da äquimolare Mengen hier vermutlich nicht notwendig sind. Eine weitere Reduktion

des Anteils an Katalysator könnte durch den Einsatz geeigneter Liganden erreicht werden. Im Hinblick auf den geringen Preis von Kupfersulfat und Natriumascorbat birgt dies jedoch nicht unbedingt einen ökonomischen Vorteil.

3.8 Vergleich der Anker

3.8.1 Einleitung

Um die Leistungsfähigkeit der neuen Ankermoleküle zu beurteilen, wurde deren Bindungsstärke an RP-Kieselgel im Vergleich zum Acridonanker bestimmt. Neben den Ankermolekülen selbst wurden auch zwei weitere Einflussgrößen auf die Bindung zur Matrix untersucht: das im Zweiphasensystem verwendete Lösungsmittel und die Polarität des gebundenen Substrates. Hierzu war eine Methodenentwicklung sowie die Synthese der Analyten, das heißt die Kupplung geeigneter Substrate an die Ankermoleküle, notwendig.

3.8.2 Einfluss des Lösungsmittels

3.8.2.1 Methodik

Im Folgenden sollte der Einfluss des Lösungsmittels auf die Bindungsstärke zum als Festphase verwendeten RP-Kieselgel für die beiden im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten Ankermoleküle bestimmt und mit der von Acridon verglichen werden. Systembedingt ist die Änderung der Bindungsstärke in Wasser bei steigendem Anteil an verschiedenen gängigen organischen Cosolvenzien von besonderem Interesse. Erste Messungen zur Wechselwirkung zwischen Adsorptiven und Adsorbenzien wurden bereits Anfang des letzten Jahrhunderts von I. Langmuir^[136] durchgeführt, der auch der Namensgeber der durch Variation der Konzentration des Adsorptiv bei konstanter Temperatur erhaltenen Langmuir-Adsorptionsisothermen ist. Die Bestimmung solcher Isothermen gehört heute zur Ausbildung im chemischen Bereich und kann bereits mit einfachen Mitteln wie der Ermittlung der Gleichgewichtskonzentration in der flüssigen Phase eines fest/flüssig-Systems durch Titration erfolgen. Universellere Methoden greifen heute auf die Möglichkeiten der modernen instrumentellen Analytik zurück und reichen von UV/vis-Spektroskopie^[137] über chromatographische Verfahren wie GC^[138] und Frontalanalyse^[139,140] bis hin zu Mikrofiltration mit anschließender TOC-Bestimmung^[141]. Allen diesen Methoden ist gemeinsam,

dass nach der Einstellung des Gleichgewichts die verbleibende Konzentration des Adsorptivs in der Flüssigphase gemessen wird.

Da im vorliegenden Fall lediglich der relative Vergleich verschiedener Adsorptive in unterschiedlichen Phasensystemen von Interesse war, wurde auf die Ermittlung der Isothermen verzichtet und die Verteilung des Ankers zwischen fester und flüssiger Phase bei nur einer Konzentration bestimmt. Hierzu wurden definierte Stoffmengen des Ankers mit RP-Kieselgel und verschiedenen wässrigen Lösungsmittelgemischen zusammengebracht. Die Lage des Gleichgewichtes kann daraufhin nach Filtration einfach durch die Bestimmung der Ankerkonzentration in der flüssigen Phase ermittelt werden. Von den zuvor genannten Methoden eignen sich hierfür insbesondere die UV/vis-Spektroskopie bzw. Photometrie. Die hierfür benötigte chromophore Gruppe lässt sich über die Anbindung eines entsprechenden Substrates an die Ankermoleküle einführen. Für andere Methoden wie Titration oder Gravimetrie wäre die vollständige Entfernung von Cosolvenzien vor der Messung notwendig, was im Fall von DMSO oder DMF mit hohem Aufwand verbunden ist und weitere Fehlerquellen birgt.

Eine größere Herausforderung stellten die photometrischen Messungen selbst dar, da die spektroskopischen Eigenschaften eines Chromophors vom Lösungsmittelsystem abhängt. Darüber hinaus weist das Lösungsmittel noch eine Eigenabsorption auf. Für jede Messung ist eine Referenz mit identischer Lösungsmittelzusammensetzung unabdingbar, evtl. müssen sogar mehrere Kalibrationsgeraden für jeden Anker erstellt werden. Um diesen zusätzlichen Aufwand zu vermeiden und Messfehler möglichst gering zu halten, erfolgte die Bestimmung der Konzentrationen über HPLC. Auf diese Weise wurden die unterschiedlichen Lösungsmittelgemische vor der eigentlichen UV/vis-Messung chromatographisch abgetrennt.

3.8.2.2 Synthese der Analyten

Die Stärke der Bindung an die Festphase der neuen Anker sollte mit der von Acridon verglichen werden. Da für den Acridonanker noch keine quantitativen Messungen dieser Art existierten, wurde dieser mit denselben Substraten koordiniert wie auch der Cholesterol- und der Desoxycholsäureanker, um den Einfluss unterschiedlicher Substrate ausschließen zu können.

Während der Acridonanker selbst bereits einen UV- und fluorenszenzaktiven Chromophor bildet, mussten beide im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten Anker erst mit einem entsprechend detektierbaren Substrat koordiniert werden. Dieses Substrat sollte nicht nur chromophore

Eigenschaften besitzen, sondern zudem auch kommerziell verfügbar und preisgünstig sein, da für die Messungen relativ große Mengen benötigt werden. Eine Wiederverwendung ist wirtschaftlich nicht sinnvoll und beschränkt zudem die Anzahl der parallel oder in schneller Folge durchführbaren Messungen. Um eine störende eigenständige Affinität des Fluorophors an die Festphase zu vermeiden, waren darüber hinaus hydrophile Farbstoffe gefragt. Diese Bedingungen schränkten die Auswahl an möglichen fluoreszenzaktiven Komponenten stark ein. Die meisten kommerziell erhältlichen Farbstoffe weisen eher einen lipophilen Charakter und zudem einen relativ hohen Preis auf. Zur Fluoreszenzmarkierung der Anker kamen dementsprechend vorzugsweise Fluoresceinisothiocyanat (Isomer I) und 7-Amino-1,3-naphthalindisulfonsäure in Frage.

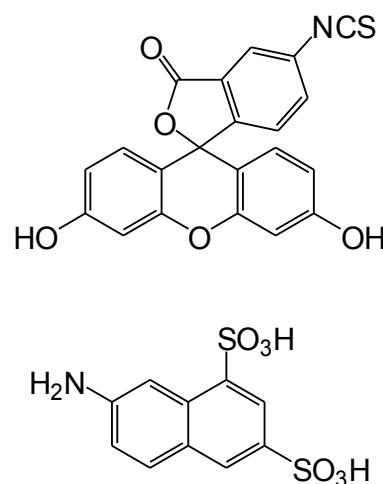
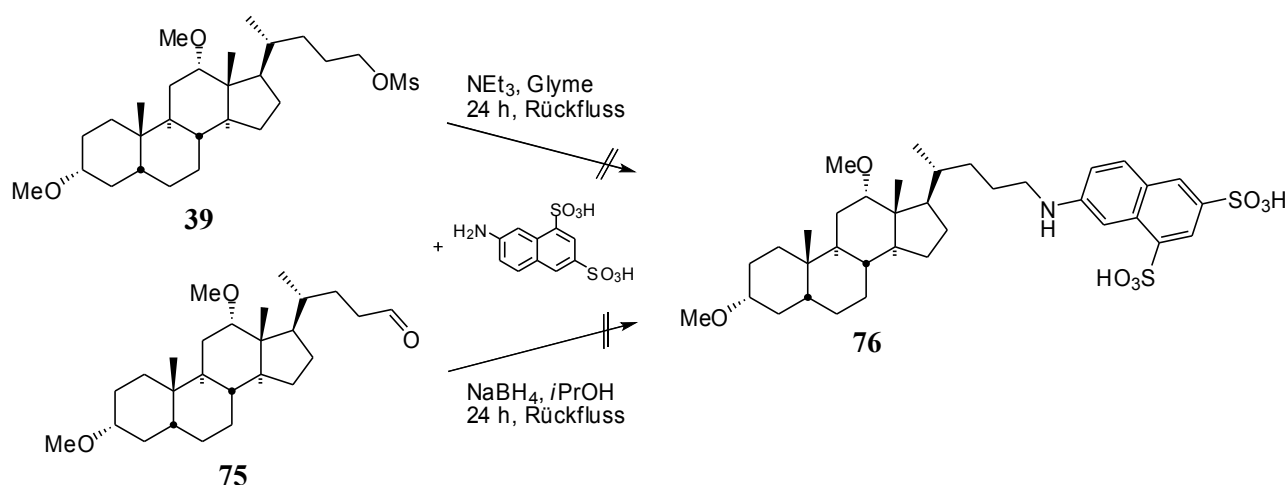


Abb. 26: Fluoresceinisothiocyanat (Isomer I) und 7-Amino-1,3-naphthalindisulfonsäure.

Um die Eignung von Fluoresceinisothiocyanat zu überprüfen, wurde es modellhaft mit 3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-ylamin (**43**) umgesetzt. Die Reaktion erfolgte in einer Mischung von wasserfreiem THF und Ethanol unter Zusatz von Triethylamin.^[142] Bei einem Verhältnis der beiden Edukte von 1:1 wurden weniger als 50 % zum Produkt umgesetzt, was eine Verwendung von Fluoresceinisothiocyanat als Fluorophor aus mehreren Gründen ausschloss. Es wären mehrere Gramm des relativ teuren Farbstoffes notwendig gewesen, um alle drei Ankermoleküle in den benötigten Mengen umzusetzen. Weitere chromatographische Aufarbeitungsschritte zur Entfernung nicht umgesetzter Edukte hätten zudem nicht nur den Syntheseaufwand weiter erhöht, sondern auch die Ausbeuten weiter verringert.

Mit 7-Amino-1,3-naphthalindisulfonsäure stand nicht nur ein preisgünstigerer Fluorophor als Fluoresceinisothiocyanat zur Verfügung, aufgrund der beiden Sulfonsäuregruppen ist er auch wesentlich polarer. Versuche zur Anbindung wurden über *N*-Alkylierung bzw. reduktive Aminierung der Aminofunktion des Farbstoffs unternommen. Die Alkylierung wurde in Ethylenglykoldimethylether (Glyme) mit Triethylamin als Base und 3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-ylmesylat (**39**) als Alkylierungsmittel durchgeführt. Die reduktive Aminierung erfolgte in Anlehnung an eine Vorschrift von K. B. Lee et al.^[143] mit 3 γ ,12 γ -Dimethoxy-24-oxo-5 δ -cholan (**75**) und Natriumborhydrid. Auf den in der Literatur beschriebenen 160-fachen Überschuss an 7-Amino-1,3-

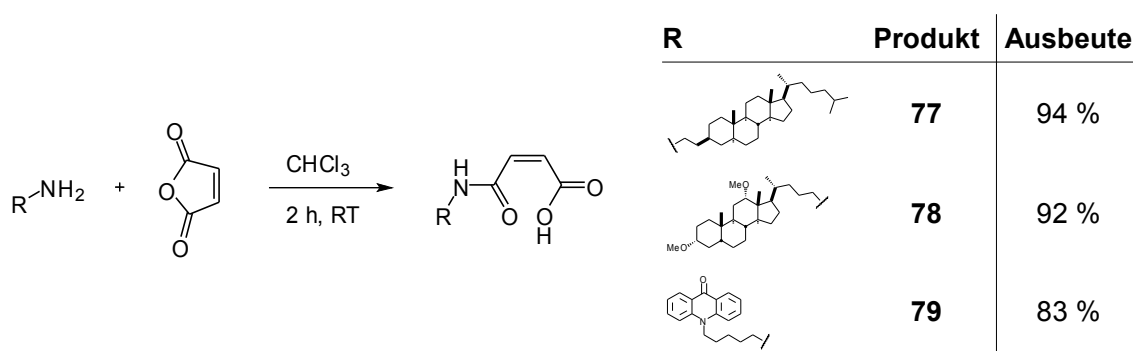
naphthalindisulfonsäure wurde verzichtet und die beiden Reaktanden im Verhältnis 1:1 eingesetzt. Statt in Wasser wurde die Reaktion in 2-Propanol durchgeführt. Bei beiden Varianten konnte keinerlei Umsatz beobachtet werden, das gewünschte Produkt *N*-(3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-yl)-7-aminonaphthalin-1,3-disulfonsäure (**76**) konnte dementsprechend nicht erhalten werden. Erklären lässt sich das negative Ergebnis aus dem Umstand, dass 7-Amino-1,3-naphthalindisulfonsäure lediglich in Wasser oder stark wasserhaltigen Lösungsmittelgemischen löslich ist, während sich **39** und **75** in wässrigen Lösungsmitteln nicht oder nur schlecht lösen.



Schema 47: Reduktive Aminierung und Alkylierung von 7-Amino-1,3-naphthalindisulfonsäure.

Da für die HPLC-Messungen ohnehin kein Fluoreszenzdetektor zur Verfügung stand, erschienen weitere Experimente zur Synthese von fluoreszenzaktiven Analyten zu aufwendig. Mit einfachen UV-aktiven Verbindungen sollten sich ähnliche Ergebnisse mit wesentlich geringerem Syntheseaufwand erzielen lassen. Als einfache, kostengünstige Verbindung, die zudem leicht mit den Aminlinkern der Anker-moleküle zur Reaktion gebracht werden konnte, kam Maleinsäureanhydrid zum Einsatz. Die bei der Kupplung entstehende Carbonsäure spiegelt darüber hinaus gut die Polarität und Hydrophilie der über die Methode der reversiblen Festphasensynthese üblicherweise umgesetzten Substrate wider. Zur Synthese der Maleinsäuremonoamide wurden die Amine **42**, **43** und **47** mit Maleinsäureanhydrid in wenig Chloroform zur Reaktion gebracht.^[144] Während die Edukte gut im Lösungsmittel löslich sind, fallen die Produkte während der Reaktion aus und können einfach abfiltriert werden. Um den hohen Ansprüchen an die Reinheit der folgenden HPLC-Messungen zu genügen, wurden die Produkte noch einer chromatographischen Reinigung unterzogen. *N*-(2-(5 γ -Cholestan-3 δ -yl)-ethyl)-maleinsäuremonoamid (**77**) und *N*-(3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-yl)-maleinsäuremonoamid (**78**) wurden in sehr guten Ausbeuten von 94 %

bzw. 92 % erhalten. Das Acridonderivat **47** lieferte das entsprechende Maleinsäuremonoamid **79** in einer guten Ausbeute von 83 %.



Schema 48: Synthese der Maleinsäureamide.

3.8.2.3 HPLC-Messungen

Die Maleinsäuremonoamide wurden zusammen mit RP-Kieselgel in synthesesrelevanten wässrigen Lösungsmittelgemischen suspendiert. Um größere Messfehler schon bei der Einwaage auszuschließen, gleichzeitig aber die benötigten Mengen an Ankermaterial möglichst gering zu halten, wurden jeweils 10 μmol des Ankers und 10.0 mg Matrix in 1.00 mL Lösungsmittel suspendiert. Dies entspricht auch den bei Synthesen bevorzugt verwendeten Verhältnissen. Als Cosolvenzien wurden Methanol, DMF und THF gewählt, da es sich hierbei um gängige, in organischen Synthesen verwendete Cosolvenzien handelt, die eine vollständige Mischbarkeit mit Wasser aufweisen. Der Anteil an organischem Lösungsmittel wurde im Bereich zwischen 0 und 100 % (v/v) variiert. Um eine vollständige Einstellung des Verteilungsgleichgewichtes zu gewährleisten, wurde das Gemisch aus Ankermaterial und Matrix zunächst mit dem organischen Solvens versetzt und mittels Ultraschall homogenisiert. Anschließend wurde soviel Wasser zugegeben, dass sich rechnerisch ein Lösungsmittelvolumen von 1 mL ergab. Eine Volumenkontraktion wurde hierbei nicht berücksichtigt. Die Proben wurden periodisch geschüttelt und nach 24 h mit Spritzenfiltern (Teflon, 1 μm) filtriert. Eine Adsorption der Analyten an das Filtermaterial wurde durch Vergleichsmessungen unfiltrierter Analytlösungen ausgeschlossen. Die Konzentration des Ankermaterials im Filtrat wurde über HPLC mit UV/vis-Detektion bei 265 nm bestimmt.

Hierfür wurde eine HPLC-Methode entwickelt, die sowohl die besonderen amphiphilen Eigenschaften der mit Maleinsäure koordinierten Ankermoleküle berücksichtigt, als auch möglichst kurze Analysenzeiten erlaubt. Einheitliche Bedingungen, unter denen Messungen mit allen

Ankermolekülen gleichermaßen möglich sind, wären von Vorteil gewesen, waren jedoch keine Voraussetzung. In Vorversuchen wurden Messungen mit Lithocholsäure (**5**) als Modellverbindung durchgeführt, um eine Vorauswahl der Eluenten zu treffen. Besonders gut eigneten sich Acetonitril und THF im Gemisch mit variablen Anteilen an Wasser.

Erste Messungen der Maleinsäureamide mit Acetonitril/Wasser als Eluent lieferten für das Cholesterolderivat **77** nur unbefriedigende Ergebnisse. Auch bei hohem Acetonitrilanteil trat eine starke Adsorption auf, die zu Retentionszeiten von über zehn Minuten und Peaks mit starkem Tailing führte. Unter denselben Bedingungen wurden die anderen beiden Amide **78** und **79** nicht retardiert und coeluierten mit dem Lösungsmittelpeak. Da das Ziel – eine schnelle Messung mit gut auszuwertendem Peak – mit diesem Eluenten für den Cholesterolanker nicht erreicht werden konnte, wurde ein anderes Eluentensystem gewählt. Mit THF/Wasser zeigten alle drei Amide ein zufriedenstellendes Elutionsverhalten, jedoch musste dem Eluenten 0.1 % (v/v) Trifluoressigsäure zugesetzt werden, um ein Tailing der Peaks zu unterdrücken. Wegen der stark unterschiedlichen Polaritäten wurde auf die Verwendung derselben Bedingungen für alle drei Amide zugunsten einer Optimierung der Analysenzeiten verzichtet. Die Retentionszeiten wurden durch Variation der Eluentenzusammensetzung so gewählt, dass die Amide in einem Bereich eluieren, in dem die Basislinie keine Systempeaks aufweist. Auf diese Weise konnten Konzentrationen ab 2 µM bzw. 1 µg/mL nachgewiesen und ausgewertet werden. *N*-(2-(5γ-Cholestan-3δ-yl)-ethyl)-maleinsäuremonoamid (**77**) eluierte mit THF/Wasser 68:32 nach 3.7 min und *N*-(3γ,12γ-Dimethoxy-5δ-cholan-24-yl)-maleinsäuremonoamid (**78**) mit THF/Wasser 58:42 nach 3.2 min. Da *N*-[5-(Acridin-9(10*H*)-on-10-yl)-1-pentyl]-maleinsäuremonoamid (**79**) bei einer Wellenlänge von 412 nm gemessen werden konnte, wo die Basislinie weniger Systempeaks aufwies, war eine genaue Einstellung der Retentionszeit zur Optimierung der Nachweisgrenze nicht notwendig. Als Eluent kam THF/Wasser 47:53 zum Einsatz, woraus eine Retentionszeit von 1.9 min resultierte.

Im Folgenden werden die mit dieser Methode erhaltenen Ergebnisse vorgestellt. Statt der Konzentration wird der in der flüssigen Phase gefundene Anteil an Ankermaterial in Prozent angegeben.

Für Wasser ohne Cosolvens konnte lediglich der Acridonanker in der flüssigen Phase detektiert werden. Der Anteil betrug 1.1 % an der Gesamtmenge des eingesetzten Amids **79**, was bedeutet, dass immerhin beinahe 99 % an die Matrix gebunden sind. Wird nach einer Synthese die Matrix jedoch noch mehrmals mit Wasser gewaschen, bedeutet dies einen Ausbeuteverlust von mehreren

Prozent. Mit Methanol als Cosolvens steigt der in der flüssigen Phase gefundene Anteil an Amid **79** langsam an, bis er in reinem Methanol sein Löslichkeitsmaximum von 20 % erreicht (s. Abb. 27). Der Desoxycholsäureanker wurde erst ab einem Methanolanteil von 40 % in der flüssigen Phase mit einem Anteil von 0.02 % nachgewiesen. Das Amid **78** zeigte jedoch eine bessere Löslichkeit in Methanol, was dazu führte, dass der Anteil in der flüssigen Phase stärker anstieg und in 90 prozentigem Methanol 85 % erreichte. Das Maleinsäureamid des Cholesterolanckers zeigte erwartungsgemäß die größte Affinität zur Festphase. Erst in 80 prozentigem Methanol konnte überhaupt Ankermaterial detektiert werden. Der Anteil am gesamten Ankermaterial betrug hier 0.1 %. In reinem Methanol waren immer noch 94 % des Amids **77** an die Matrix gebunden.

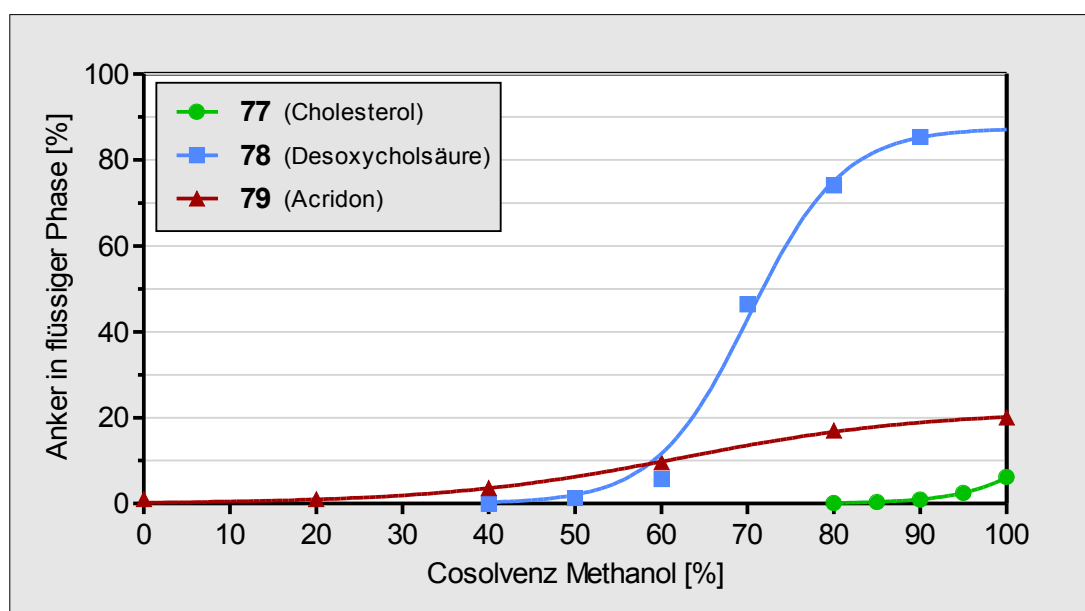


Abb. 27: Verteilungsgleichgewicht mit Cosolvens Methanol.

Mit DMF als Cosolvens wurden generell höhere Anteile des Ankermaterials in der flüssigen Phase erwartet, da die Maleinsäureamide in diesem Lösungsmittel besser löslich sind. Entsprechend wurden bei einem Cosolvensanteil von 40 % bereits 10 % des Amids **79** in der flüssigen Phase gefunden. Im Folgenden stieg die Kurve exponentiell an und lief bei 80 % DMF in eine Sättigung. Hier befanden sich 95 % des Ankermaterials in Lösung. Das Maleinsäureamid des Desoxycholsäureankers (**78**) zeigte einen ähnlichen Kurvenverlauf, der jedoch zu höheren Anteilen an DMF hin verschoben war. Das Amid **78** konnte erst in 20 prozentigem DMF mit einem Anteil von 0.03 % nachgewiesen werden. Der exponentielle Anstieg war ab 60 % DMF zu beobachten. In 90 prozentigem DMF befand sich dann 90 % des eingesetzten Ankermaterials in Lösung. Der Cholesterolancker löste sich erst ab 75 % DMF nachweisbar von der Matrix. Der in der flüssigen

Phase gefundene Anteil stieg auch hier bei Erhöhung des DMF-Anteils im Lösungsmittel exponentiell an und erreichte 68 % in reinem DMF.

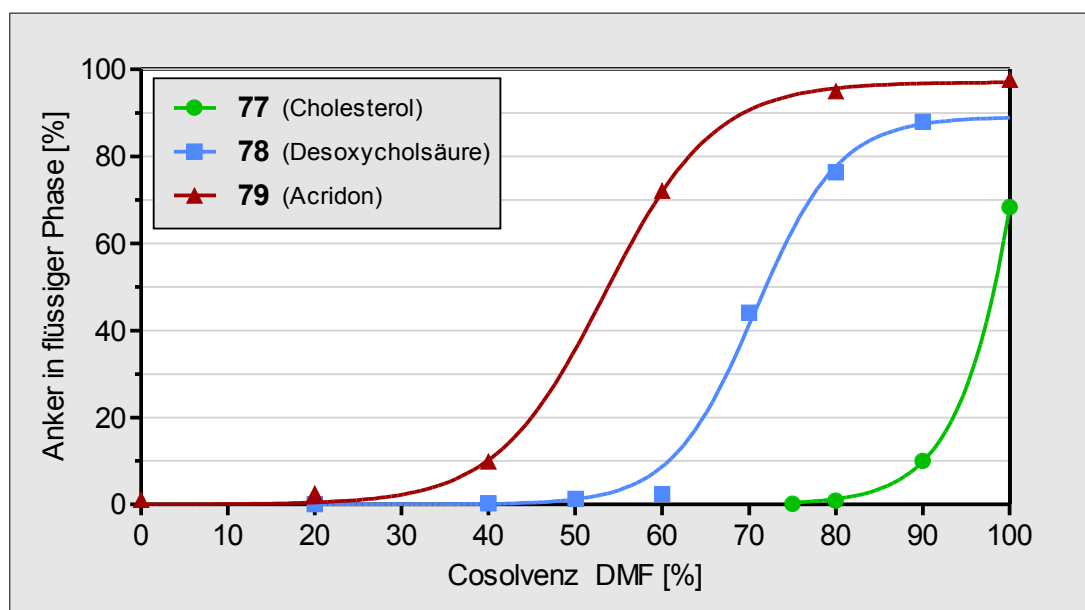


Abb. 28: Verteilungsgleichgewicht mit Cosolvens DMF.

Schon bei den durchgeführten Synthesen erwies sich THF als das Lösungsmittel der Wahl, vor allem für die besonders hydrophoben Cholesterolverbindungen. Dementsprechend zeigte hier zum ersten Mal auch die Auftragung des Anteils an Ankermaterial in der flüssigen Phase gegen den Anteil an Cosolvens für den Cholesterolanker eine Sättigung, die bei einem THF-Anteil von 80 % erreicht wurde. Ab einem THF-Anteil von 35 % war ein Nachweis in der flüssigen Phase möglich. Die anderen beiden Anker zeigten einen ähnlichen Kurvenverlauf, jedoch zu niedrigeren THF-Anteilen hin verschoben. Bemerkenswert ist hierbei, dass das Maleinsäureamid des Desoxycholsäureankers (**78**) zwar erst ab 25 % nachgewiesen werden konnte, die Kurve jedoch steiler verlief als beim Acridonanker, und schon bei 60 % THF-Anteil die Sättigung erreichte. Beim Acridonanker war dies erst bei etwa 70 % der Fall.

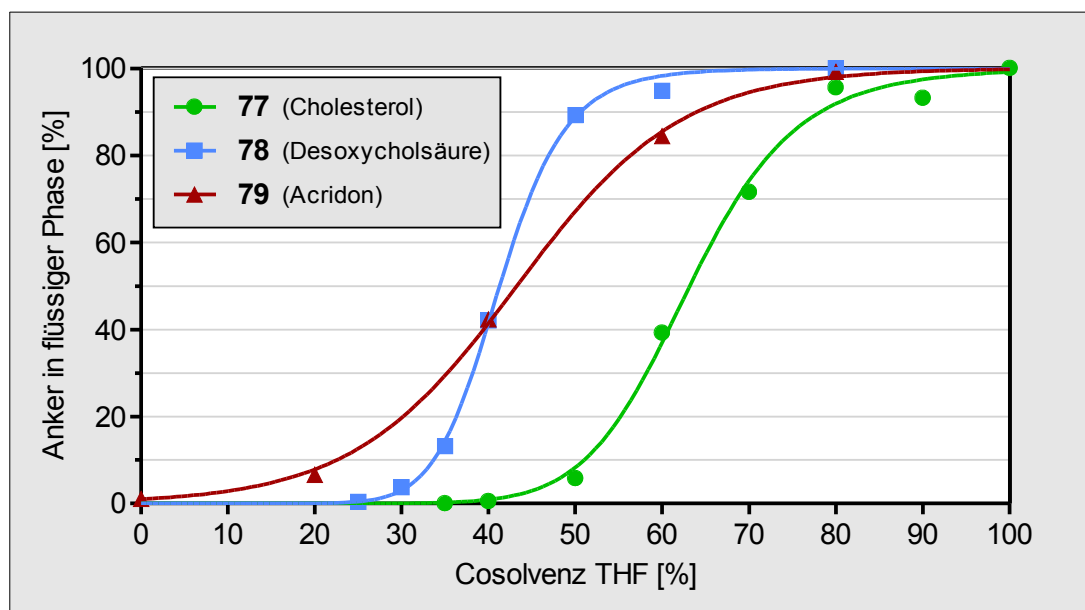


Abb. 29: Verteilungsgleichgewicht mit Cosolvens THF.

3.8.2.4 Bewertung der Ergebnisse

Beide im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten Ankermoleküle zeigten in Wasser und wässrigen Lösungsmittelgemischen mit hohem Wasseranteil eine größere Affinität zur Festphase als der Acridonanker. Bei höheren Anteilen an Cosolvens war eine höhere Bindungsstärke des Desoxycholsäureankers gegenüber Acridon nicht immer gegeben. Die mit Abstand beste Anbindung in allen untersuchten Lösungsmittelgemischen wies der Cholesterolanker auf.

Bemerkenswert hoch ist der negative Einfluss der beiden Methoxygruppen des Desoxycholsäureankers. Obwohl Desoxycholsäure ein ausgedehnteres Kohlenstoffgerüst besitzt als Acridon, zeigte der Desoxycholsäureanker teilweise eine schlechtere Anbindung an die Festphase. Besonders deutlich trat dieser Effekt in Methanol auf, wo der Acridonanker schnell die Löslichkeitsgrenze erreichte. So waren in 90 prozentigem Methanol lediglich etwa 19 % des Acridonankers in der flüssigen Phase nachweisbar, während sich bereits 85 % des Desoxycholsäureankers in Lösung befanden.

3.8.3 Einfluss des Substrates

3.8.3.1 Methodik

Das an den Anker gebundene Substrat besitzt einen großen Einfluss auf die Gesamtpolarität und Hydrophilie des Anker/Substrat-Moleküls und damit auf die Stärke der Bindung zur Festphase. Um diesen Einfluss näher zu untersuchen und zu quantifizieren, standen zwei Methoden zur Verfügung. Die an eine Oberfläche bindende Stoffmenge lässt sich direkt durch Oberflächenplasmonresonanz^[145,146,147] mittels Biacore-Messungen bestimmen. Für dieses Verfahren stehen eine ganze Reihe von Sensorchips mit unterschiedlicher Oberflächenbelegung kommerziell zur Verfügung, unter anderem langkettige Alkanthiole auf einer Goldoberfläche, die im vorliegenden Fall verwendet wurden. Da Biacore-Messungen nur mit einer sehr eingeschränkten Auswahl an polaren, wasserhaltigen Eluenten durchgeführt werden können, lassen sich unpolare, in wasserhaltigen Lösungsmitteln nur schwer lösliche Verbindungen wie der Cholesterolanker mit dieser Methode nicht in jedem Fall vermessen. Alternativ wurde ein Vergleich der verschiedenen Anker/Substrat-Moleküle über den Vergleich ihrer Retentionszeiten mittels HPLC-Messungen vorgenommen. Da das Säulenmaterial dem für Synthesen eingesetzten RP-Kieselgel entspricht, sollten die Retentionszeiten die Affinität des Ankers zur Festphase widerspiegeln. Der größte Vorteil der HPLC-Messungen ist, dass im Prinzip keine Einschränkung für den verwendeten Eluenten besteht. Eine besondere Probenvorbereitung ist bei beiden Methoden nicht notwendig. Die Proben werden – nach Möglichkeit im Eluenten – gelöst und injiziert.

3.8.3.2 Die Analyten

Für die Messungen standen eine Reihe verschiedener, an den Acridonanker gebundene Mono- und Disaccharide sowie Sialokonjugate zur Verfügung, die von P. Unruh im Rahmen seiner Dissertation^[148] synthetisiert wurden. Die Verbindungen teilen sich in drei Gruppen auf, zwischen denen große Unterschiede im Adsorptionsverhalten aufgrund der unterschiedlichen Zahl an Zuckerkörpern erwartet wurden. Die Gruppe der Monosaccharide umfasst die Glucosamine **88**, **89** und **90**, die der Disaccharide die Lactosederivate **91**, **92**, **61**. Innerhalb dieser Gruppen ändert sich lediglich der Linker, so dass hier dessen Einfluss auf die Bindung zur Festphase quantifiziert werden kann. Durch den Vergleich des Lactosamins **93** und des Sialinsäurederivats **94** sollten die Unterschiede im Bindungsverhalten von Di- und Trisacchariden untersucht werden. Die Sialokonjugate **95**, **96**, **97**, **98**, **99** bilden eine Gruppe von Trisacchariden, die sich lediglich aufgrund der Acylgruppe am Amid-Stickstoff der Neuraminsäure unterscheiden, was die Ermittlung

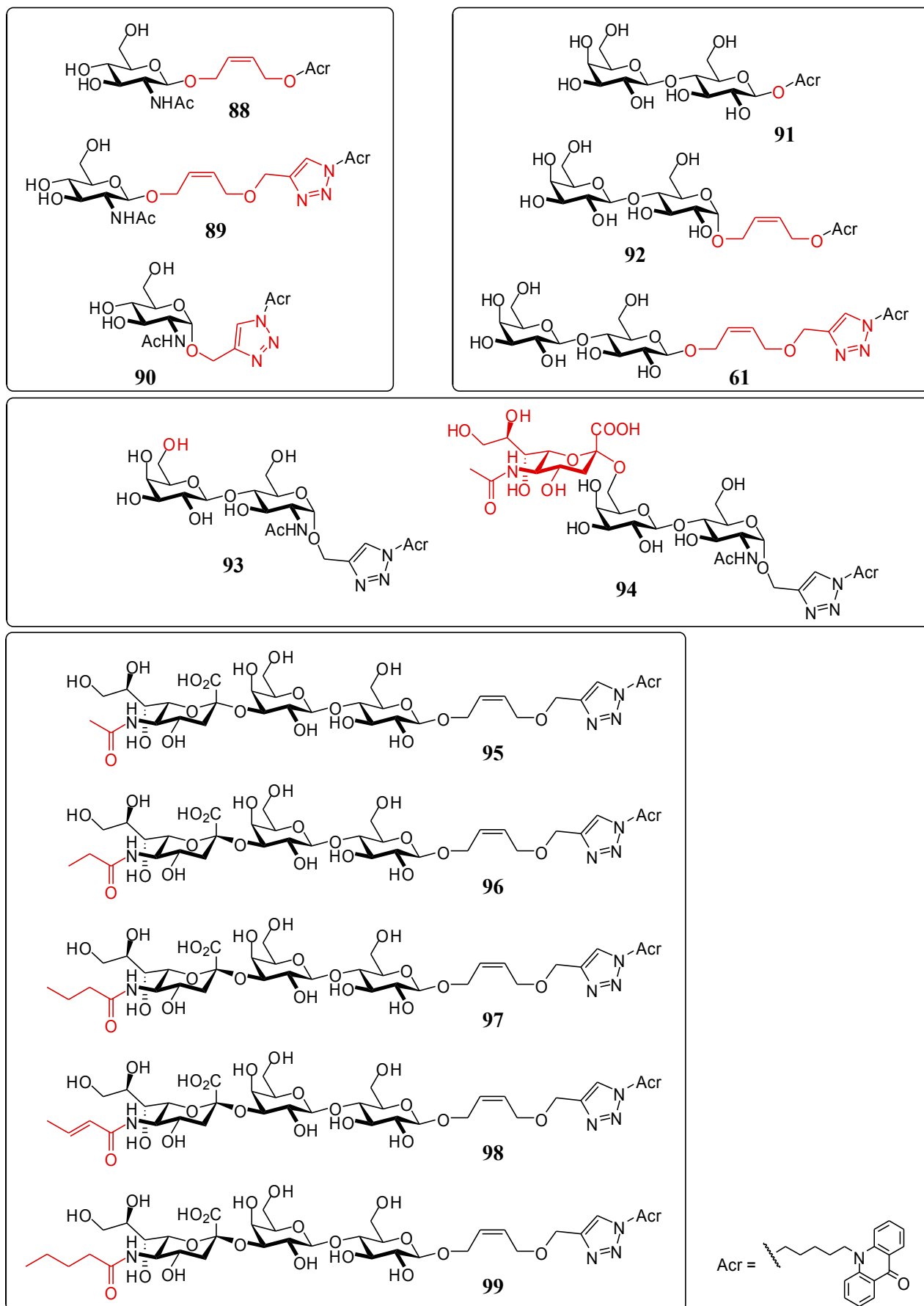


Abb. 30: Die Acridon enthaltenden Analyten zur Bestimmung des Einflusses des Substrates.

des Einflusses hydrophober Seitenketten auf die Assoziation zur Matrix ermöglicht. Die einzelnen Gruppen sind in Abb. 30 dargestellt, wobei die Unterschiede innerhalb einer Gruppe farblich hervorgehoben sind.

Um den Cholesterol- und Desoxycholsäureanker mit Acridon vergleichen zu können, wurden diese ebenfalls mit einem Zucker konjugiert. Bei Monosacchariden zeigte Acridon in früheren synthetischen Experimenten^[47] noch eine hohe Affinität zur Festphase, so dass das polarere Disaccharid Lactose als Substrat ausgewählt wurde. Die Anbindung der Saccharide erfolgte wie im Kapitel 3.6 (s. S. 53) beschrieben über die „Click“-Reaktion.

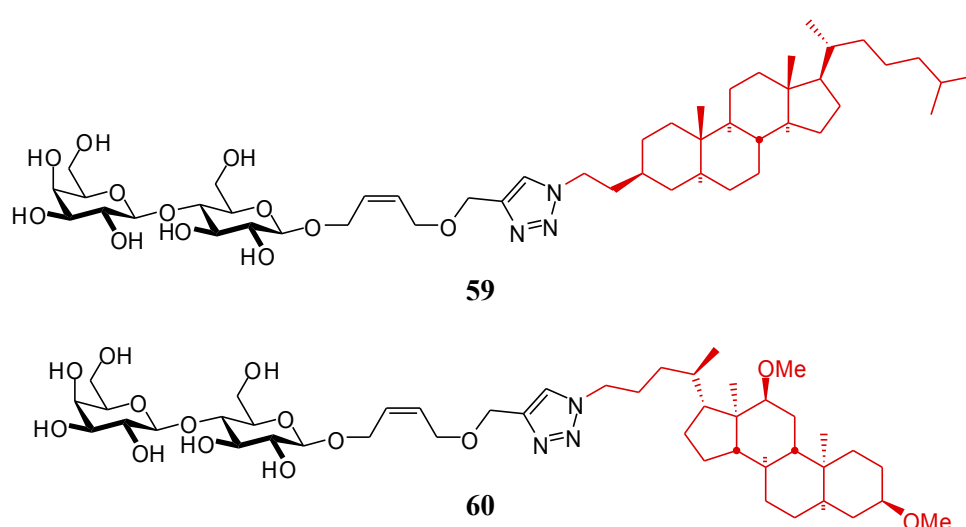


Abb. 31: Cholesterol- und Desoxycholsäureanker mit Lactose als Substrat.

3.8.3.3 Oberflächenplasmonresonanz

Licht, das in einem bestimmten Winkel auf einen dünnen Metallfilm trifft, interagiert mit den delokalisierten Elektronen des Metalls (Plasmon), wodurch die Intensität des reflektierten Lichts abnimmt. Dieses Phänomen nennt man Oberflächenplasmonresonanz (*surface plasmon resonance*, SPR).^[145,146,147] Der Einfallswinkel, in dem die Resonanz auftritt, hängt von einer Reihe von Faktoren ab. Bei dem für die Messungen verwendeten Gerät BIACORE 2000 ist jedoch hauptsächlich der Brechungsindex in

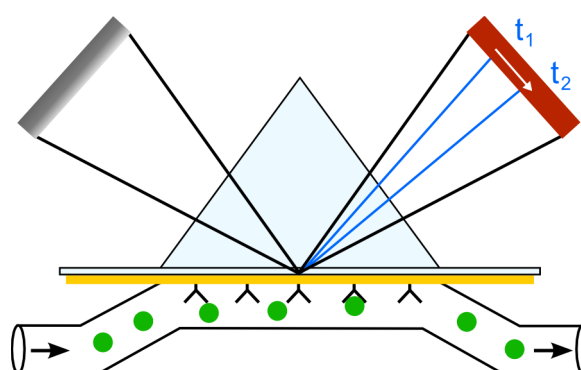


Abb. 32: Schematische Darstellung eines SPR-Detektors: Lichtquelle, Prisma (blau), Detektor (DAD, rot), Metallfilm (gelb), Resonanzwinkel zur Zeit t_1 und t_2 .

unmittelbarer Nähe der Rückseite des Metallfilms relevant. Dort werden Moleküle immobilisiert (z. B. Alkanthiole an einer Goldoberfläche), die mit Liganden in der flüssigen Phase der Flusszelle interagieren. Bindet ein Ligand an das auf der Metalloberfläche immobilisierte Molekül, ändert sich der lokale Brechungsindex und damit der Winkel der Resonanz. Anhand der Geschwindigkeit dieser Änderung lassen sich Geschwindigkeitskonstanten für die Assoziation und Dissoziation sowie die Gleichgewichtskonstante (Affinität) berechnen. Die Größe der Änderung (*response units*, RU) ist proportional zur Masse an gebundenen Liganden. 1000 RU entsprechen etwa 1 ng gebundenem Material.

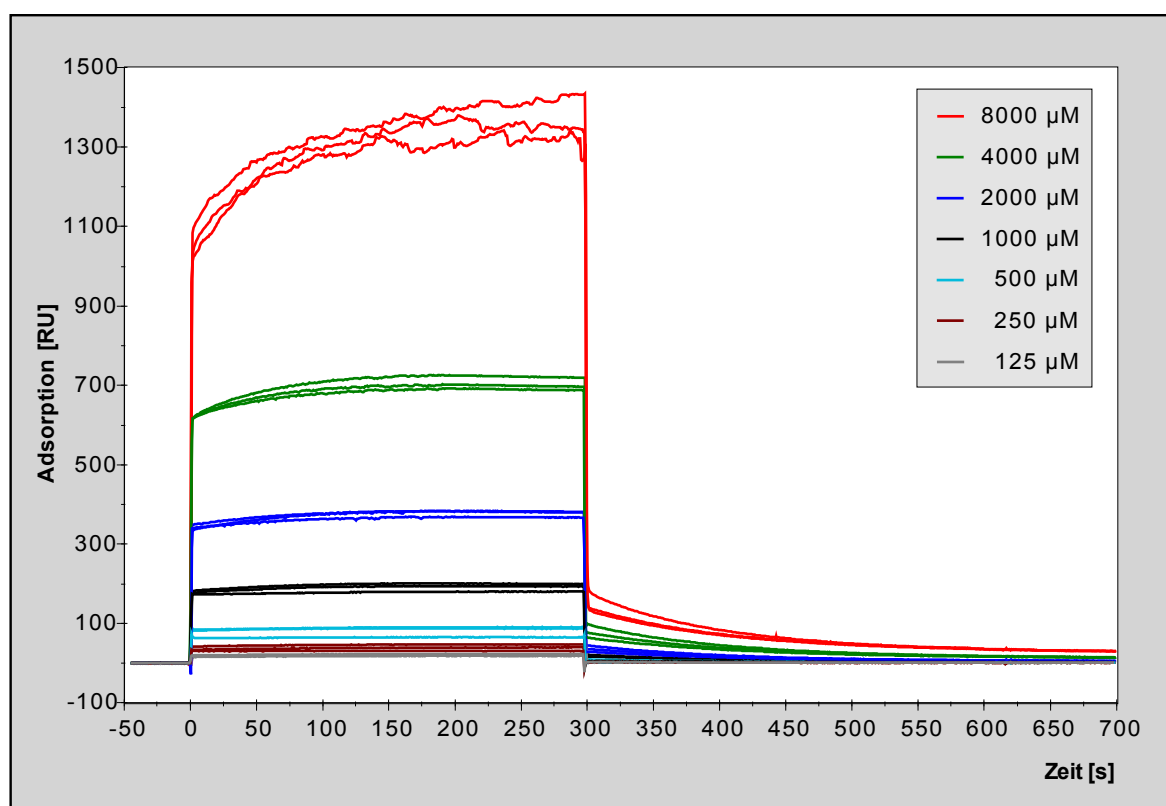


Abb. 33: Dosis-Wirkungs-Messungen mit dem Lactosid **61** (Dreifachbestimmung).

Zur Bestimmung der Affinität der Analyten zu einer hydrophoben Oberfläche mittels Oberflächenplasmonresonanz musste zunächst die Minimalkonzentration des Analyten für gut auszuwertende Sensorgramme (Bindungskurven) sowie ein geeigneter Eluent gefunden werden. Diese einleitenden Experimente wurden mit dem Lactosid **61** durchgeführt, für welches eine Konzentrationsreihe im Laufmittel angesetzt wurde. Hierbei zeigte sich ein großer Einfluss des Laufmittels auf die erhaltenen Bindungskurven, so dass dessen Optimierung besondere Aufmerksamkeit zukam. Die besten Ergebnisse erbrachte eine Eluentenzusammensetzung von 150 mM NaCl, 10 mM HEPES

(pH 7.4) und 3 mM EDTA in Wasser. Als organischer Modifier kam Ethanol zum Einsatz, wobei die stabilsten Bindungskurven bei einem Anteil von 2 % (v/v) Ethanol erhalten wurden. Um den Drift der Basislinie und das Rauschen zu minimieren, wurde dem Laufmittel zudem 0.05 % (v/v) Tween20 (Polysorbat) zugesetzt. Bei den Dosis-Wirkungs-Messungen zur Bestimmung der optimalen Analytenkonzentration wurden vor allem nach der Injektion nur relativ schwache Signale erhalten, da die Analyten verglichen mit den üblicherweise mit dieser Methode untersuchten Biomolekülen eine sehr geringe Molmasse aufweisen und dementsprechend auch weniger Masse an der Oberfläche des Sensors gebunden wird. Die für die eigentlichen Affinitätsmessungen verwendete Konzentration von 8 mM stellte für einige der Analyten bereits die Löslichkeitsgrenze dar. Wegen der großen benötigten Mengen konnten nicht alle Verbindungen vermessen werden. Die Experimente beschränkten sich demzufolge auf die Acridon-Verbindungen **88** (S1), **89** (S2), **92** (S7), **61** (S10), **93** (S4), **95** (S11) und **99** (S15). Wie zuvor bereits vermutet, ließen sich die Cholesterol- und Desoxycholsäureverbindungen **59** und **60** in für die Biacore-Anlage geeigneten Eluenten nicht lösen, so dass die Bindung der neuen Ankermoleküle zu hydrophoben Oberflächen mit dieser Methode nicht untersucht werden konnte.

Zur Bestimmung der Affinität der Analyten zur Sensoroberfläche wurde die Signalstärke direkt nach der Injektion ausgewertet (s. Abb. 34). Die zur am Sensor gebundenen Masse proportionalen Signalstärken wurden mit den Molmassen der jeweiligen Analyten korrigiert und untereinander verglichen. Auf eine Kalibration zur Bestimmung der absoluten gebundenen Stoffmengen wurde verzichtet. Die erhaltenen relativen Affinitäten entsprachen weitgehend den Erwartungen. Hervorzuheben ist der große Unterschied zwischen dem Glucosamin mit (**89**) und ohne Triazol (**88**). **89** weist dabei eine ähnliche Bindung zur Festphase auf wie das Disaccharid **92**. Darüber hinaus zeigte die Valeryl-Sialinsäure **99** eine unerwartet hohe Affinität, die beinahe so groß war, wie die des Monosaccharids **88**, und etwa sechsmal höher als die der Acetyl-Sialinsäure **95**. Zwar trägt **99** im Gegensatz zu **95** einen Valeriansäurerest am Stickstoff der Neuraminsäure, dies allein genügt jedoch nicht für den beobachteten Affinitätsunterschied. Eine weitere Untersuchung der Ursache steht noch aus.

Zusätzlich zur Signalstärke direkt nach der Injektion kann der Kurvenverlauf während und nach der Injektion ausgewertet werden, um die Geschwindigkeitskonstanten der Assoziation und Dissoziation zu erhalten. Da die Signaländerungen durch die Bindung der Analyten an die Sensoroberfläche durch die Änderung des Brechungsindex des Laufmittels, verursacht durch den darin gelösten Analyten während der Injektion, überlagert werden, ist eine Referenzzelle notwendig,

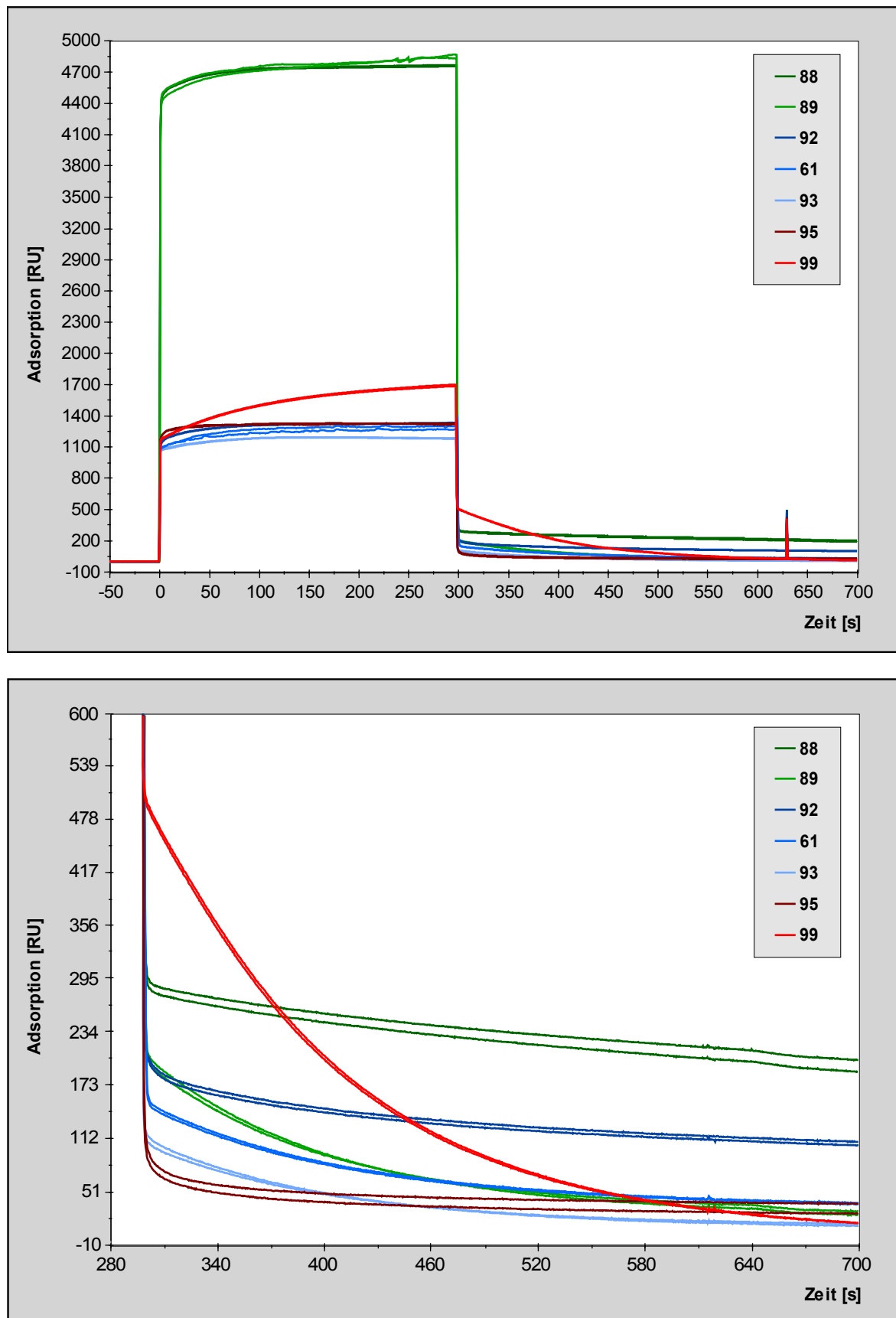


Abb. 34: Bindungskurven: Gesamtmessung (oben), nach Injektion (unten); grün: Monosaccharide, blau: Disaccharide, rot: Trisaccharide.

deren Oberfläche keine Belegung aufweist. Das Signal dieser Zelle entspricht der Änderung des Brechungsindex des Eluenten und wird vom Signal der Messzelle abgezogen. Da apparatebedingt keine Referenzzelle verwendet werden konnte, war eine quantitative Bestimmung der Assoziations- und Dissoziationskinetiken nicht möglich. Einige Besonderheiten der Sensorgramme konnten dennoch beobachtet werden. So zeigen die Monosaccharide **88** und **89** während der Injektion wesentlich stärkere Signale als die übrigen Analyten. Dies könnte auf einen zweiten Assoziationsmodus hindeuten: eine schnelle aber schwächere Interaktion zwischen Analyt und Sensoroberfläche. In Abb. 34 (unten) sind zudem die unterschiedlichen Dissoziationsgeschwindigkeiten der untersuchten Moleküle zu erkennen. Die Dissoziationsrate des Trisaccharids **99** unterscheidet sich hier deutlich von denen der anderen Verbindungen, allerdings ist auch dessen Assoziationsrate größer (s. Abb. 34, oben). Um den zweiten Assoziationsmodus zu bestätigen und auch quantitative Aussagen zu Assoziations- und Dissoziationsraten machen zu können, sind jedoch weitere Untersuchungen mit Referenzzelle notwendig.

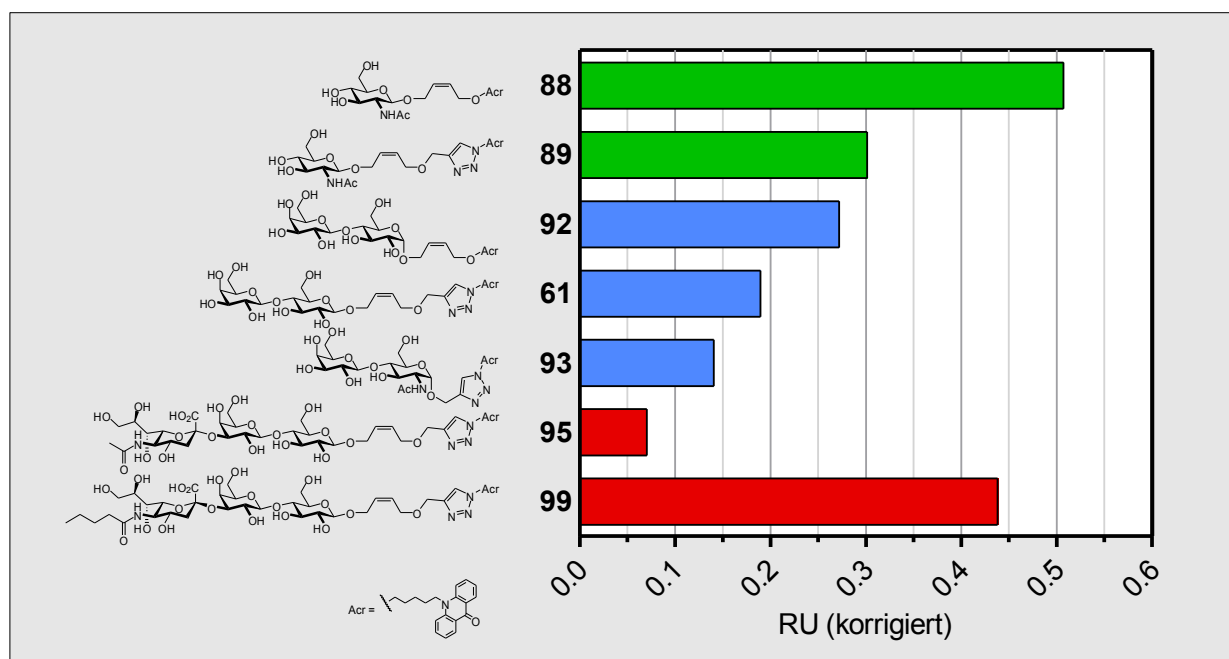


Abb. 35: Ergebnisse der Biacore-Messungen (grün: Monosaccharide, blau: Disaccharide, rot: Trisaccharide).

3.8.3.4 HPLC-Messungen

Da die Vermessung der neuen Anker-moleküle mit der Oberflächenplasmonresonanz infolge von Löslichkeitsproblemen nicht möglich war, wurde die Stärke der Bindung zu RP-Kieselgel über die Retentionszeiten bei HPLC-Messungen bestimmt. Bei der HPLC beruht die Trennung der Analyten darauf, dass diese unterschiedliche Adsorptionsgeschwindigkeiten an bzw. Desorptionsgeschwindig-

keiten von der stationären Phase aufweisen. Das Trennverfahren beruht also auf den gleichen physikalischen Größen, die mittels Oberflächenplasmonresonanz bestimmt werden können. Daher ist zu erwarten, dass sich mit beiden Methoden vergleichbare Resultate erhalten lassen.

Zunächst wurde eine Methode zur Trennung der Verbindungen mit dem Acridonanker entwickelt. Da im Gegensatz zu den Biacore-Messungen keine definierten Konzentrationen der Analyten injiziert werden mussten und zudem die für auswertbare Signale notwendige Menge wesentlich geringer war, konnten alle der zuvor gelisteten Verbindungen (s. Abb. 30, S. 81) analysiert werden. Als Eluent kam Acetonitril/Wasser zum Einsatz. Um anhand der Retentionszeiten auch quantitative Aussagen zur Bindungsstärke machen zu können, erfolgten erste Messungen zunächst isokratisch. Es zeigte sich jedoch schnell, dass wegen der großen Polaritätsunterschiede verschiedene Eluentenzusammensetzungen verwendet werden mussten, wodurch ein Vergleich der einzelnen Verbindungen schwierig gewesen wäre. Demzufolge wurde ein Wasser/Acetonitril-Gradient von 90:10 (v/v) nach 10:90 (v/v) verwendet (0 min: H₂O/MeCN = 90:10, 10 min: H₂O/MeCN = 50:50, 15 min: H₂O/MeCN = 10:90).

Erwartungsgemäß zeigten die Retentionszeiten bei Wiederholungsmessungen sehr gute Reproduzierbarkeit, so dass auch kleine Unterschiede ausgewertet werden konnten. Die Reihenfolge, in der die Verbindungen eluierten, entspricht im Wesentlichen der, die aufgrund der Strukturen erwartet wurde, und befinden sich in guter Übereinstimmung mit den Biacore-Messungen. Auf einige Besonderheiten soll hier dennoch eingegangen werden. So zeigten die Disaccharide nur minimal kürzere Retentionszeiten als die Monosaccharide. Da es sich bei den Monosacchariden um Glucosaminderivate und bei den Disacchariden um Lactosederivate handelt, ist dieser Umstand wohl primär auf die polare Amidfunktion zurückzuführen. Sehr gut ist auch der Einfluss der verschiedenen Linker zu beobachten. So verbessert die Anwesenheit der 1,4-Butenyliden-Gruppe die Bindung zur Festphase (z. B. **91** und **92**), während sich der Triazolring negativ auswirkt (z. B. **88** und **89**). Die Cholesterol- und Desoxycholsäurederivate **59** bzw. **60** wurden mit dieser Methode ebenfalls erfolgreich vermessen und zeigten deutliche höhere Retentionszeiten von 19.4 min für **59** und 15.6 min für **60**. Damit war das Elutionsvolumen von **60** etwa doppelt so groß wie das des vergleichbaren Acridonderivats **61**. Das Cholesterolderivat **59** wurde noch etwas stärker retardiert, der Unterschied zum Desoxycholsäureanker fiel jedoch weniger deutlich aus, als erwartet. Wegen ihrer niedrigen Polarität eignete sich der verwendete Gradient jedoch nur bedingt für die Lactosederivate der neuen Ankermoleküle. Die hohen Retentionszeiten bzw. geringen Löslichkeiten führten zu einer starken Peakverbreiterung, was sich negativ auf die

Genauigkeit der Messung und auch die Nachweisgrenze auswirkte. Hinzu kam, dass der Triazolring als einziger Chromophor nur eine wenig spezifische Absorption bei 212 nm ausweist. Die Basislinie ist bei dieser Wellenlänge daher wesentlich unruhiger.

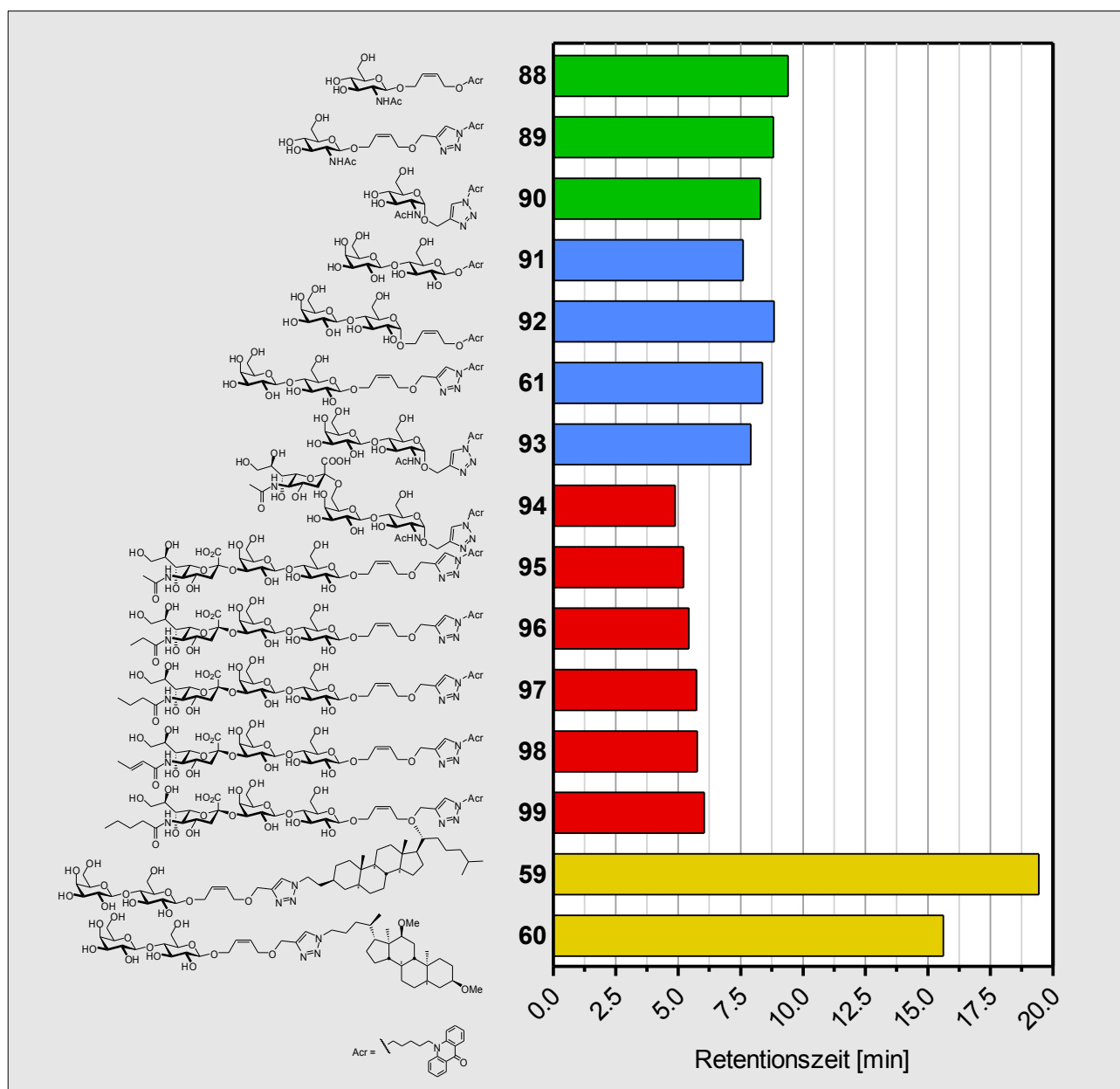


Abb. 36: HPLC-Messungen mit einem Acetonitril/Wasser-Gradient (grün: Monosaccharide, blau: Disaccharide, rot: Trisaccharide, gelb: Cholesterol- und Desoxycholsäureanker).

Um den Unterschied zwischen den beiden neuen Anker-molekülen besser beurteilen zu können, wurden zusätzlich isokratische Messungen in THF/Wasser durchgeführt. Die Acridonderivate **88**, **93**, **94** und **97** wurden daneben als Referenz verwendet. Die Retentionszeit des Desoxycholsäurederivats **60** war mit 4.0 min etwas mehr als doppelt so hoch wie die der

Acridonderivate, zwischen denen infolge der kurzen Retentionszeiten kaum noch ein Unterschied festgestellt werden konnte. Das Cholesterolderivat eluierte erst nach 44 min und zeigte damit eine Affinität zur stationären Phase, die so bei den Gradientenmessungen nicht zu erkennen war.

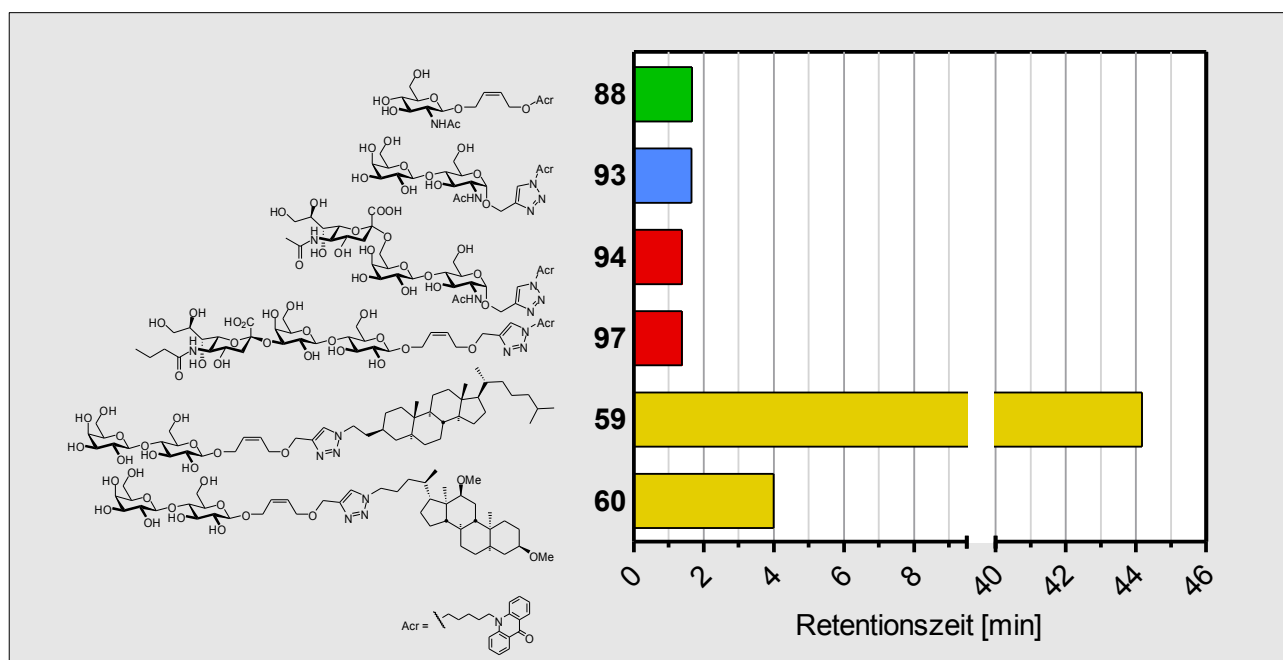


Abb. 37: HPLC-Messungen in THF/Wasser (grün: Monosaccharide, blau: Disaccharide, rot: Trisaccharide, gelb: Cholesterol- und Desoxycholsäureanker).

3.8.3.5 Zusammenfassung

Beide Methoden – HPLC und Biacore – lieferten vergleichbare Ergebnisse, die sich auch mit den Erwartungen hinsichtlich der Struktur der Analyten deckten. Die Methodenentwicklung und die Probenvorbereitung waren bei den Oberflächenplasmonresonanzmessungen aufwendiger und benötigten größere Mengen der Analyten. Mit diesem höheren Aufwand lassen sich jedoch auch mehr Informationen über das untersuchte System erhalten, insbesondere zu den Kinetiken der Assoziation und Dissoziation. Dieser Vorteil konnte allerdings nicht in vollem Umfang genutzt werden, da bei den im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Messungen keine Referenzzelle zur Verfügung stand. Als Nachteil erwiesen sich die infolge des niedrigen Molgewichtes der Analyten geringen Signalstärken. Sind nur die relativen Polaritäten der untersuchten Substanzen von Interesse, ist die HPLC die Methode der Wahl. Mit gängigen Eluenten und nahezu ohne Probenvorbereitung lassen sich in kurzer Zeit die Retentionszeiten für viele Verbindungen bestimmen. Da die Probe in einem beliebigen Lösungsmittel injiziert werden kann, treten anders als bei den Biacore-Messungen Löslichkeitsprobleme nicht auf.

Über den Vergleich verschiedener an den Acridonanker gebundener Substrate ließen sich Erkenntnisse über den Einfluss verschiedener funktioneller Gruppen auf die Polarität des Gesamtmoleküls gewinnen. Im Besonderen fielen hier Amidfunktionalitäten auf, die die Polarität in ähnlichem Maße beeinflussten wie eine zusätzliche Monosaccharideinheit. Die Befürchtung, dass der Triazolring bei Anwesenheit von Carbonsäuregruppen durch Bildung von Ionenpaaren zu einer starken Verschlechterung der Anbindung an die Matrix führt, bewahrheitete sich nicht.

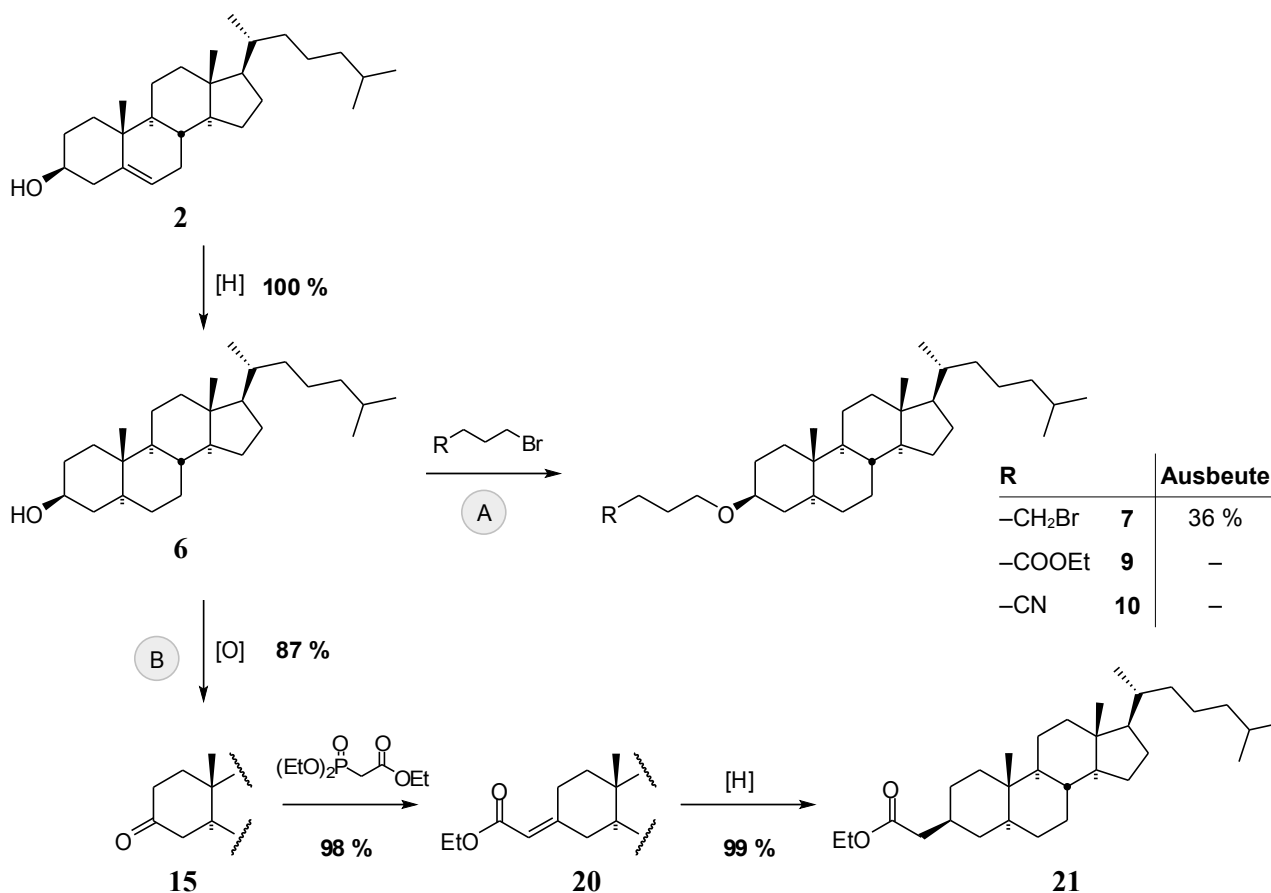
Die beiden neuen Ankermoleküle zeigten bei den Gradientenmessungen etwa doppelt so lange Retentionszeiten wie die Acridonderivate. Der Unterschied zwischen beiden fiel jedoch geringer aus, als nach den Messungen zum Einfluss des Lösungsmittels (s. Kapitel 3.8.2, S. 71) erwartet wurde. Bei den in THF/Wasser durchgeführten isokratischen Messungen eluierte das Cholesterolderivat elfmal langsamer als das Desoxycholsäurederivat, was den vorherigen Beobachtungen wesentlich besser entsprach.

Die Bindungsstärke des von Rademann et al. als Anker verwendeten Glycerol-1,3-bis-(octadecanyl)-ethers im Vergleich zum Cholesterol- und Desoxycholsäureanker ist nur schwer abzuschätzen. Der Ether besitzt mit 39 Kohlenstoffatomen zwar eine größere hydrophobe Oberfläche als die beiden Steroide (27 Kohlenstoffatome für das Grundgerüst des Cholestanols), diese ist jedoch nicht starr und somit unter anderem vom Lösungsmittel abhängig. Außerdem enthält der Anker drei Ethergruppen, die sich negativ auf das Bindungsverhalten auswirken, wie die in dieser Arbeit durchgeführten Messungen mit dem Desoxycholsäureanker gezeigt haben.

4. Zusammenfassung und Ausblick

4.1 Synthese der Anker

Auf der Basis von Cholesterol (**2**) und Desoxycholsäure (**4**) gelang die Synthese von zwei neuen Anker-molekülen für Festphasensynthese mit reversibler Anbindung an RP-Kieselgel. Beide Synthesesequenzen wurden hinsichtlich ihrer Ausbeuten und der verwendeten Reagenzien soweit optimiert, dass auch Synthesen im Multigramm-Maßstab problemlos durchgeführt werden können.

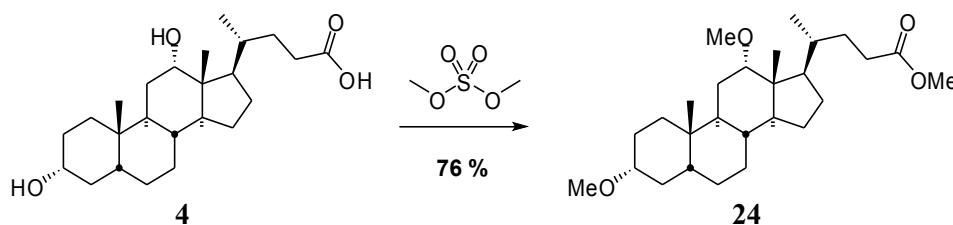


Schema 49: Synthese des Cholesterolankers.

Die Synthese eines Ankers ausgehend von Cholesterol (**2**) begann mit der Hydrierung zu 5 α -Cholestan-3 δ -ol (**6**). Anschließend Versuche zur Alkylierung der Alkoholfunktionalität am A-Ring des Cholestanols lieferten keine zufriedenstellenden Ausbeuten oder führten nicht zum gewünschten Produkt (s. Schema 49, Route A). Aufgrund dieser Schwierigkeiten wurde der Alkohol **6** in einer alternativen Syntheseroute (s. Schema 49, Route B) zu 5 γ -Cholestan-3-on (**15**) oxidiert. Aus

ökologischen Gründen wurde hier ein Verfahren gesucht, das ohne stöchiometrische Mengen an Schwermetallen auskommt. Die besten Ergebnisse erzielte Kaliumbromat mit Cerammoniumnitrat als Katalysator. Zur Einführung eines geeigneten Linkers kamen verschiedene C-C-verknüpfende Reaktionen in Frage, von denen lediglich die Wittig-Horner-Reaktion mit Diethylphosphonoessigsäureethylester die hohen Ansprüche an Reaktionsführung und Ausbeute erfüllte. Die Hydrierung des ungesättigten Esters **20** zu (5 γ -Cholestan-3 δ -yl)-essigsäure-ethylester (**21**) schloss die Synthese des Ankers ab. Die Optimierung aller vier Stufen steigerte die Gesamtausbeute auf 84 %. Synthesen im 100-g-Maßstab waren problemlos möglich.

Da Desoxycholsäure (**4**) bereits einen geeigneten Spacer mit Linkerfunktionalität in Form der Carbonsäuregruppe aufwies, war lediglich die Einführung permanenter Schutzgruppen an den Alkoholen notwendig. Die zu diesem Zweck durchgeführte Methylierung erforderte infolge der sterischen Hinderung der Hydroxylgruppen den Einsatz hoher Temperaturen und langer Reaktionszeiten, wodurch sich zunächst Nebenprodukte bildeten. Durch Anpassungen an der Reaktionsführung konnten die Nebenreaktionen weitgehend unterdrückt und die Ausbeute an 3 γ , 12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholansäuremethylester (**24**) auf 76 % gesteigert werden.

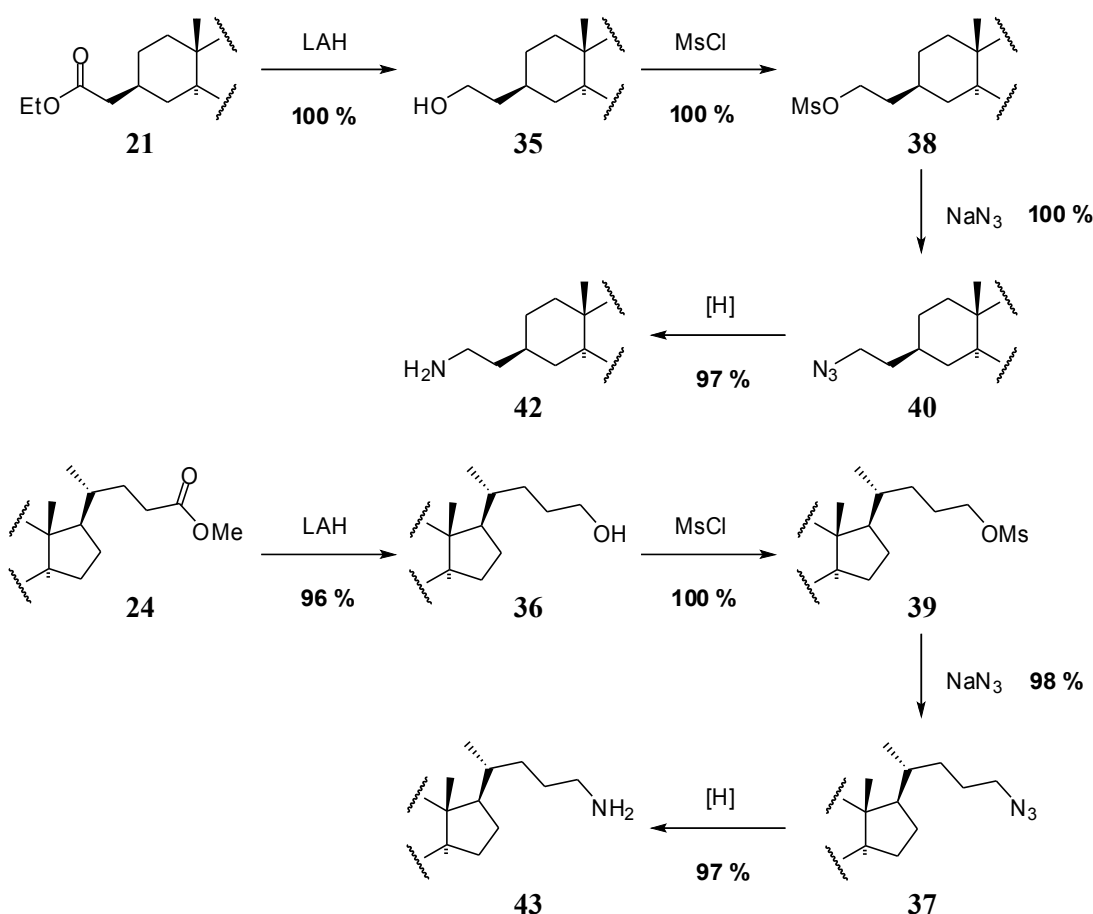


Schema 50: Synthese des Desoxycholsäureankers.

Um eine einfachere Analytik zu ermöglichen, wurde die Anbindung von Chromophoren an die Alkoholfunktion der Lithocholsäure (**5**) untersucht. Da sich Alkylierungen bei ähnlichen Verbindungen aufgrund der sterischen Hinderung als sehr schwierig erwiesen, wurden die Isocyanate chromophorer Verbindungen eingesetzt. Obwohl die Isocyanate nachweislich mit Alkoholen zur Reaktion gebracht werden konnten, wurde mit Lithocholsäuremethylester (**32**) keinerlei Umsatz beobachtet.

Die als Linker fungierenden Carbonsäureesterfunktionalitäten der Anker-moleküle wurden in andere funktionelle Gruppen umgewandelt, um verschiedene Substrate anbinden zu können. Eine einfache Synthesesequenz ermöglichte den Zugang zu einer Reihe verschiedener Linker. Durch Reduktion

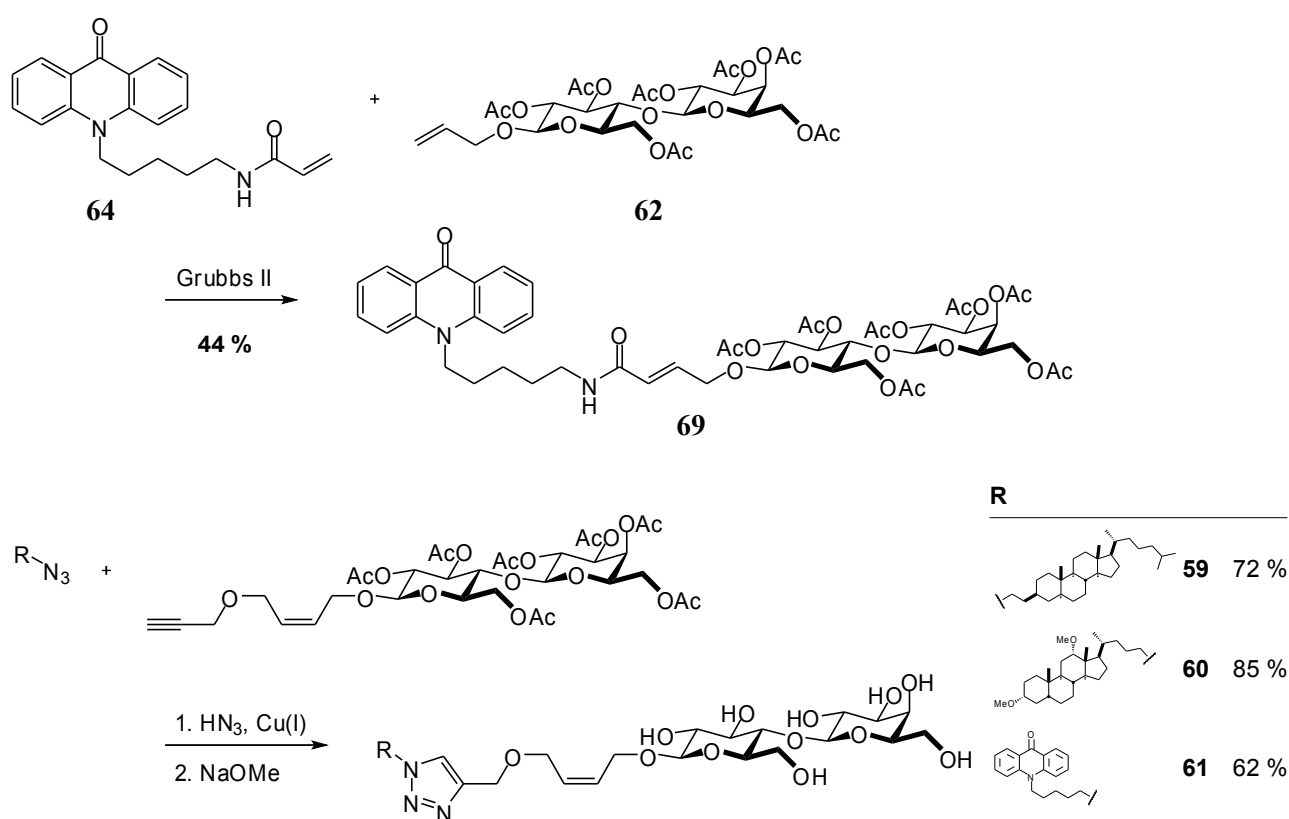
der Ester **21** und **24** wurden die entsprechenden Alkohole **35** und **36** erhalten, über die sich Carbonsäuregruppen tragende Substrate anbinden lassen. Umsetzungen mit Methansulfonylchlorid ergaben die Methansulfonsäureester **38** und **39**. Prinzipiell könnten daran Amine oder Alkohole weitgehend irreversibel durch Alkylierung gebunden werden, sie stellten jedoch vor allem Zwischenprodukte zur Synthese der Azide **40** und **37** dar, die sich zur Anbindung von Substraten mittels „Click“-Chemie eignen. Durch katalytische Hydrierung der Azide wurden die Amine **42** und **43** erhalten, an die sich unter anderem Carbonsäuren binden lassen. Durch Optimierungen an der Reaktionführung konnten die Ausbeuten aller Reaktionen dieser Synthesesequenz auf über 95 % gesteigert werden.



Schema 51: Synthese verschiedener Linkerfunktionalitäten.

Da Oligosaccharide in der Natur in einer Reihe von biologischen Prozessen eine wichtige Rolle spielen und die Abtrennung aus dem Reaktionsgemisch bei deren Synthese aufgrund des hydrophilen Charakters oftmals eine Herausforderung darstellt, wurden unterschiedliche Strategien zur Koordination mit hydrophoben Markierungen untersucht. Erste Experimente, bei denen der mit einem Alkohollinker versehene Acridonanker (**49**) in einer Helferich-Reaktion mit Hepta-*O*-acetyl-

γ -D-lactosylbromid (**50**) umgesetzt wurde, führten nicht zum Erfolg. Daraufhin wurden „Click“- und Metathese-Reaktionen hinsichtlich ihrer Anwendbarkeit zur Anbindung von Lactose an den Acridonanker evaluiert. Hierbei zeigte sich eine prinzipielle Eignung beider Methoden, wobei vor allem die Neigung zur Polymerisation des Acrylamids **64** sowie die vergleichsweise hohe Polarität des Produktes **69** gegen die Metathese-Reaktion sprechen. Mittels „Click“-Reaktion wurden auch die Lactosederivate des Cholesterol- und Desoxycholsäureankers **59** bzw. **60** hergestellt, die bei den HPLC-Messungen zur Ermittlung der Leistungsfähigkeit der neuen Anker-moleküle exemplarisch verglichen wurden.

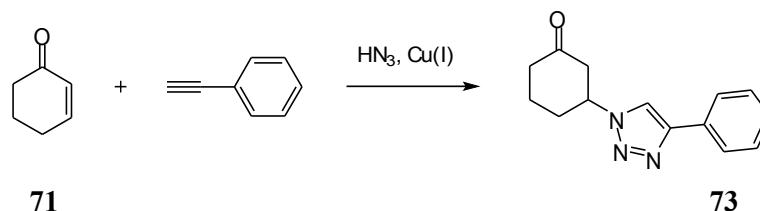


Schema 52: Hydrophobe Markierung von Sacchariden.

4.2 Tandemreaktionen

Die „Click“-Reaktion bietet einen sehr einfachen Zugang zu 1,2,3-Triazolen, was auch in dieser Arbeit bestätigt werden konnte. Um den zusätzlichen Syntheseschritt, der zur Herstellung der dafür benötigten Azide notwendig ist, und darüber hinaus eine Aufbewahrung der teilweise instabilen Azide zu umgehen, wurde im Rahmen dieser Arbeit eine Methode zur Erzeugung von organischen Aziden durch Michael-Addition an γ/δ -ungesättigte Carbonylverbindungen entwickelt. Eine besondere Herausforderung stellt hierbei die Tatsache dar, dass die „Click“-Reaktion durch im

Überschuss vorhandenes anorganisches Azid inhibiert wird. Während bei einer Verringerung des eingesetzten Azids die vorgelagerte Michael-Addition zum Erliegen kam, gelang durch den Einsatz stöchiometrischer Mengen des Cu(I)-Katalysators die erfolgreiche Durchführung der Eintopfreaktion.



Schema 53: Tandemreaktion.

Da diese Reaktion in wasserhaltigen Lösungsmitteln durchgeführt wird, wäre für zukünftige Arbeiten eine Übertragung auf das reversible Festphasensystem interessant, wofür allerdings noch einige Herausforderungen zu bewältigen sind. Aufgrund der hohen Konzentration an Cu(I)-Salzen fallen diese teilweise aus, was eine Abtrennung von an die Festphase gebundenem Produkt erschwert. Eine größere Verdünnung oder der Einsatz von Komplexbildnern könnte hier der Schlüssel zum Erfolg sein. Das für die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Versuche verwendete 3-Cyclohexen-1-on eignet sich nicht für die Koordination mit einem hydrophoben Anker. Es müssen also zunächst geeignete Substrate ausgewählt und eine dazu passende Linkerstrategie entwickelt werden.

4.3 Vergleich der Anker

Zum Vergleich der drei Ankermoleküle wurden verschiedene Messverfahren eingesetzt, für die jeweils eine geeignete Methode entwickelt wurde. Untersuchungen zum Einfluss des Lösungsmittels auf die Bindung zur Festphase erfolgten mittels HPLC und in geringerem Maße auch über UV/vis-Messungen. Die Änderung der Bindungsstärke bei verschiedenen gebundenen Substraten wurde mit Oberflächenplasmonresonanz und HPLC ermittelt. Die hierbei erhaltenen Ergebnisse folgten größtenteils den aufgrund der Struktur und der angenommen Polarität der Verbindungen getroffenen Erwartungen. Besonders hervorzuheben ist der negative Einfluss der beiden Methoxygruppen des Desoxycholsäureankers, wodurch dieser unter bestimmten Bedingungen sogar eine geringere Affinität zur Matrix zeigte als der Acridonanker.

Insgesamt zeigten die beiden im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten Anker die erhoffte Verbesserung der Affinität zu RP-Kieselgel. Der Vergleich der Retentionszeiten der Ankermoleküle, an die Lactose gekuppelt war, zeigte für das Desoxycholsäurederivat **60** im Vergleich zum Acridonanker (**61**) eine Verdoppelung der Affinität zu unpolaren Phasen. Das Cholesterolderivat **59** band sogar 22 mal stärker an die stationäre Phase der HPLC-Säule als das Lactosederivat des Fluorophors. Bei der Bestimmung des Verteilungsgleichgewichtes zwischen RP-Kieselgel und verschiedenen wässrigen Lösungsmittelgemischen zeigten die Maleinsäureamide der beiden Steroidanker **77** und **78** in stark wasserhaltigen Gemischen ebenfalls eine überlegene Bindung zur Matrix. Mit steigendem Cosolvensanteil büßte der Desoxycholsäureanker seine Überlegenheit gegenüber dem Maleinsäurederivat des Acridonankers **79** teilweise ein, der Cholesterolanker zeigte auch hier die mit Abstand stärkste Affinität zum RP-Kieselgel.

4.4 Ausblick

Der Vergleich der Anker zeigte einen eher unerwartet großen Einfluss der Methoxygruppen auf die Bindungsstärke des Desoxycholsäureankers. Durch vollständige Entfernung der Hydroxylfunktionen statt deren Methylierung stünde ein hydrophober Anker zur Verfügung, der sowohl die hohe Affinität des Cholesterols zu Umkehrphasen, als auch mit der Carbonsäurefunktion an C-24 eine sterisch gut zugängliche Linkerfunktionalität aufweist. Diese Desoxygenierung preisgünstig sowie in hohen Ausbeuten und im Multigrammmaßstab durchzuführen, ist jedoch vermutlich nicht trivial, wie in Kapitel 3.2.2 (S. 37) diskutiert wurde.

Darüberhinaus stehen Untersuchungen aus, ob sich die Methode der reversiblen Festphasensynthese auch für Reaktionen im Multigrammmaßstab eignet. Im Gegensatz zur Festphasensynthese an Polymerharzen weist die hierbei verwendete Matrix eine hohe mechanische Stabilität und gute Wiederverwendbarkeit auf, so dass auch große Ansätze möglich sein sollten. Bisherige Synthesen beschränkten sich auch infolge der schlechten Verfügbarkeit entsprechender Mengen an Ankermaterial auf wenige Millimol. Da sich insbesondere der Cholesterolanker leicht in Mengen von 100 Gramm herstellen lässt, steht Experimenten in dieser Richtung nun nichts mehr im Wege.

Ferner wäre auch ein Vergleich der im Rahmen dieser Arbeit vorgestellten Ankermoleküle mit anderen zur hydrophoben Markierung verwendeten Molekülen, wie sie z. B. von J. Rademann et al. (s. Abb. 19, S. 45) eingeführt wurden, interessant. Da diese Verbindungen keine starre Struktur aufweisen, ließe sich der erwartete Vorteil eines unflexiblen Ringsystems, wie es Cholesterol und

Desoxycholsäure aufweisen, quantifizieren. Zudem könnte auch der negative Einfluss der Etherfunktionalitäten, wie er schon beim Desoxycholsäureanker beobachtet wurde, weiter untersucht werden.

5. Experimenteller Teil

5.1 Geräte und Reagenzien

5.1.1 Präparative Arbeiten

Für alle Reaktionen und säulenchromatographische Trennungen wurden destillierte Lösungsmittel verwendet. Versuchsansätze unter Luft und/oder Feuchtigkeitsausschluss wurden unter N_2 - bzw. Ar-Atmosphäre durchgeführt. Hierbei wurden absolute Lösungsmittel eingesetzt. Lösungsmittel wurden bei reduziertem Druck bei einer Wasserbadtemperatur von 40 °C am Rotationsverdampfer entfernt. Die Entfernung von Wasser als Lösungsmittel erfolgte schnell und schonend an einem Rotationsverdampfer mit -15 °C kaltem Kühlmittel in Verbindung mit einer dreistufigen Membranpumpe ($p = 2$ mbar).

Alle angegebenen Reaktionstemperaturen wurden extern gemessen.

5.1.2 Für Reaktionen eingesetzte spezielle Arbeitsgeräte und -materialien

Ozongenerator:	Ozon-Generator Modell 502 (Fa. Fischer) 70 – 90 mmol · h ⁻¹ ($p = 4$ mWs, $V_1 = 40$ L · h ⁻¹)
Ultraschallbad:	Sonorex RK 52 H (Fa. Bandelin electronics)
Gefriertrocknung:	Lyovax GT 2 (Fa. Steris)
Photometer	Ultrospec Plus Spectrophotometer (Fa. Pharmacia LKB)
pH-Meter	Calimatic 761 (Fa. Knick)
Ionenaustauscher:	Amberlite® IR-120, stark sauer (Fa. Fluka)

5.1.3 Chromatographie

5.1.3.1 Säulenchromatographie

Für die Säulenchromatographie fanden Kieselgel 60 (Korngröße: 63 – 200 μm) und Kieselgel für die Flash-Chromatographie (Korngröße 40 – 64 μm) der Fa. Merck KGaA Verwendung.

5.1.3.2 Dünnschichtchromatographie

Dünnschichtchromatogramme wurden auf Kieselgel-Alufolien 60 F₂₅₄ (Schichtdicke 0.2 mm) erstellt.

Angaben über die jeweiligen Laufmittel sind im Text vermerkt. Die Mischungsverhältnisse der verwendeten Laufmittel entsprechen den Volumenanteilen.

Bei UV- oder fluoreszenzaktiven Verbindungen erfolgte die Detektion über UV-Absorption bei $\lambda = 254 \text{ nm}$ (UV/VIS) bzw. bei $\lambda = 366 \text{ nm}$. Zum Anfärben der Dünnschichtchromatogramme anderer Verbindungen fanden übliche Färbereagenzien Verwendung:

- Anisaldehyd-Reagenz (2.5 % in konz. H_2SO_4 / Eisessig / Ethanol = 7.5:2.2:200)
- Molybdätophosphorsäure-Lösung (1.0 g in 10 mL EtOH)
- Ninhydrin-Lösung (1.0 % in 2-Propanol) für Aminosäuren und Amine

5.1.4 NMR-Spektren

Die Aufnahme der NMR-Spektren erfolgte auf folgenden Geräten:

- ARX-300, Fa. Bruker (300 MHz)
- AC-300, Fa. Bruker (300 MHz)
- AVANCE 500, Fa. Bruker (500 MHz)

Die Messungen wurden bei 295 K durchgeführt. Die chemischen Verschiebungen sind in ppm (δ -Skala) angegeben. In Klammern dahinter stehen die Multiplizitäten (s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, q = Quartett, quin. = Quintett und m = Multiplett, sowie b = verbreitertes Signal als Präfix

bzw. in Kombination mit Multiplizitäten), Kopplungskonstanten in Hertz, Intensitäten und strukturelle Zuordnungen.

Die Auswertung der ^1H -NMR-Spektren erfolgte nach erster Ordnung. Die Signalzuordnung der ^1H -breitbandentkoppelten ^{13}C -NMR-Spektren gelang unter Berücksichtigung der entsprechenden DEPT Messungen. Sofern erforderlich wurden die Signalzuordnungen der ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren unter Verwendung von zweidimensional korrelierten $^1\text{H}/^1\text{H}$ -gsCOSY-, $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ -HSQC-, HMBC-, gsNOESY- und TOCSY-Experimenten abgesichert.

5.1.5 Massenspektrometrie

Für die Massenspektrometrie fanden folgende Geräte Verwendung:

- Elektronenstrahlionisation (EI): MAT 212 (Datensystem Teknivent Vector 2) (Fa. Varian)
- Elektrosprayionisation (ESI): Esquire LC (Fa. Bruker)

Die Angaben des Masse/Ladungs-Verhältnis (m/z) der Ionen beziehen sich auf atomare Masseneinheiten und spiegeln nur den Basispeak wider.

5.2 Vergleich der Anker

5.2.1 HPLC-Vorversuche

Vorversuche zur Bestimmung der idealen Laufmittelzusammensetzung wurden auf einer Shimadzu-Anlage durchgeführt, bestehend aus folgenden Komponenten:

- Shimadzu LC-9A Hochdruckpumpe
- Kontron Modell 420 Hochdruckpumpe
- Shimadzu SPD-6A UV-Detektor
- Rheodyne 8125 Probenaufgabeeventil, Volumen Probenschleife: 5 μL
- Gynkotek BFO-04 Säulenofen
- Shimadzu SS420 A/D-Wandler
- Uniflows DEGASYS DG 1310 Entgaser

Zur Datenaufnahme und -auswertung wurde die Software CLASS VP, Ver. 4.3, von Shimadzu verwendet.

Als stationäre Phase kamen C18 und C8 reversed-phase Silicagelsäulen zum Einsatz. Lithocholsäure wurde als Modellverbindung mit folgenden mobilen Phasen vermessen:

- Methanol/Wasser (70:30 – 100:0)
- Methanol/Wasser/Chloroform (75:20:5)
- Aceton/Wasser (80:20)
- THF/Wasser (70:30)
- Acetonitril/Wasser (70:30 und 80:20)

5.2.2 HPLC-Messungen zum Verteilungsgleichgewicht

Es wurde eine HPLC-Anlage vom Typ HP1100 der Firma Agilent Technologies mit Entgaser, Pumpe, Autosampler, Säulenofen und UV/vis-Detektor verwendet. Die Datenaufnahme und -auswertung erfolgte mit der Software PSS WinGPC der Firma Polymer Standards Service GmbH.

Von den drei Modellverbindungen

- *N*-(2-(5 γ -Cholestan-3 δ -yl)-ethyl)-maleinsäuremonoamid **77** und
- *N*-(3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-yl)-maleinsäuremonoamid **78**,
- *N*-[5-(Acridin-9(10*H*)-on-10-yl)-1-pentyl]-maleinsäuremonoamid **79**

wurden jeweils 10 μ mol und 10 mg reversed-phase-Kieselgel (Fluka, Kieselgel 100 C₁₈-Umkehrphase, endcapped) eingewogen und mit dem organischen Lösungsmittel (THF, DMF bzw. Methanol) versetzt. Die Probe wurde mittels Ultraschall homogenisiert, auf 1 mL mit Wasser aufgefüllt und anschließend über Nacht bei RT stehen gelassen. Die Injektion erfolgte nach Filtration durch einen Spritzenfilter (Teflon, 1 μ m). Das Standardinjektionsvolumen betrug 10 μ L. Die Eluentenzusammensetzung für das Cholesterolderivat **77** war THF/H₂O 68:32 (v/v) für das Desoxycholsäurederivat **78** THF/H₂O 58:42 (v/v), und für das Acridonderivat **79** THF/H₂O 47:53 (v/v). Allen Eluenten wurde 0.1 % (v/v) TFA zugesetzt. Die Messungen erfolgten bei einer Flussrate von 1 mL/min und einer Säulentemperatur von 35 °C. Als stationäre Phase wurde eine Säule

ZORBAX Eclipse XDB-C18 (4.6 x 150 mm, 5 µm Partikelgröße) von Agilent eingesetzt. Die Detektion erfolge bei 265 nm für das Cholesterolderivat **77** und das Desoxycholsäurederivat **78** bzw. bei 412 nm für das Acridonderivat **79**.

5.2.3 Vergleich mittels Biacore

Es wurde eine Anlage vom Typ BIACORE 2000 von Biacore AB verwendet. Als Sensor Chip kam ein Biacore AB HPA (langkettiges Alkanthiol auf Au) zur Anwendung. Als Laufmittel kam eine Lösung von 150 mM NaCl, 10 mM HEPES (pH 7.4), 3 mM EDTA, 0.05 % (v/v) Tween20 (Polysorbat) in Wasser mit 2 % (v/v) EtOH zum Einsatz.

Um den Einfluss von verschiedenen Substraten auf die Stärke der Bindung von Anker zu RP-Silicagel zu untersuchen, wurden die Verbindungen

- 10-{5-[4-(2-Acetamido-2-desoxy- δ -D-glucosyloxy)-(Z)-2-buten-1-yloxy]-pentyl}-acridin-9-(10H)-on (**88**),
- 10-{5-[4-((4-(2-Acetamido-2-desoxy- δ -D-glucosyloxy)-(Z)-2-buten-1-yloxy)-methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl]-pentyl}-acridin-9-(10H)-on (**89**),
- 10-{5-[4-(γ -D-Lactosyloxy)-(Z)-2-buten-1-yloxy]-pentyl}-acridin-9-(10H)-on (**92**),
- 10-{5-[4-((δ -D-Lactosyloxy)-(Z)-2-buten-1-yloxy)-methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl]-pentyl}-acridin-9-(10H)-on (**61**),
- 10-{5-[4-((2-Acetamido-2-desoxy- δ -D-lactosyloxy)-methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl]-pentyl}-acridin-9-(10H)-on (**93**),
- 10-{5-[4-((4-(N-Acetyl-5-amino-3,5-didesoxy- γ -D-galacto-2-octulopyranosylonsäure-(2,3)- δ -D-lactosyloxy)-(Z)-2-buten-1-yloxy)-methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl]-pentyl}-acridin-9-(10H)-on (**95**) und
- 10-{5-[4-((4-(N-Valeryl-5-amino-3,5-didesoxy- γ -D-galacto-2-octulopyranosylonsäure-(2,3)- δ -D-lactosyloxy)-(Z)-2-buten-1-yloxy)-methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl]-pentyl}-acridin-9-(10H)-on (**99**)

in Konzentrationen von 8 mM, 4 mM, 2 mM, 1 mM, 500 µM, 250 µM und 125 µM im Laufmittel gelöst und über einen Zeitraum von 5 min injiziert. Mit den Cholesterol- und

Desoxycholsäurederivaten konnte das Experiment aufgrund deren schlechter Löslichkeit im Laufmittel nicht durchgeführt werden. Generell sind bei dieser Methode nur stark wasserhaltige Laufmittel möglich, in denen eine verbesserte Löslichkeit der Cholesterol- und Desoxycholsäurederivate nicht zu erwarten ist.

Zur Regeneration der Sensoroberfläche wurden in regelmäßigen Abständen Pufferinjektionen vorgenommen, die auch zur Referenzierung verwendet wurden. Hierzu wurde die Pufferkurve von der Kurve der Probe subtrahiert, um systematische Artefakte (z. B. Rauschen und Drift der Basislinie) zu eliminieren.

5.2.4 Vergleich über HPLC-Retentionszeiten

Es wurde eine HPLC-Anlage vom Typ HP1100 der Firma Agilent Technologies mit Entgaser, Pumpe, Autosampler, Säulenofen und UV/vis-Detektor verwendet. Die Datenaufnahme und -auswertung erfolgte mit der Software PSS WinGPC der Firma Polymer Standards Service GmbH.

Die Acridonderivate

- 10-{5-[4-(2-Acetamido-2-desoxy- δ -D-glucosyloxy)-(Z)-2-buten-1-yloxy]-pentyl}-acridin-9-(10H)-on (**88**),
- 10-{5-[4-((4-(2-Acetamido-2-desoxy- δ -D-glucosyloxy)-(Z)-2-buten-1-yloxy)-methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl]-pentyl}-acridin-9-(10H)-on (**89**),
- 10-{5-[4-((2-Acetamido-2-desoxy- γ -D-glucosyloxy)-methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl]-pentyl}-acridin-9-(10H)-on (**90**),
- 10-[5-(δ -D-Lactosyloxy)-pentyl]-acridin-9-(10H)-on (**91**),
- 10-{5-[4-(γ -D-Lactosyloxy)-(Z)-2-buten-1-yloxy]-pentyl}-acridin-9-(10H)-on (**92**),
- 10-{5-[4-((4-(δ -D-Lactosyloxy)-(Z)-2-buten-1-yloxy)-methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl]-pentyl}-acridin-9-(10H)-on (**61**),
- 10-{5-[4-((2-Acetamido-2-desoxy- δ -D-lactosyloxy)-methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl]-pentyl}-acridin-9-(10H)-on (**93**),
- 10-{5-[4-((N-Acetylneuraminsäure-(2,6)-2-acetamido-2-desoxy- δ -D-lactosyloxy)-methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl]-pentyl}-acridin-9-(10H)-on (**94**),

- 10-{5-[4-((4-(*N*-Acetyl-5-amino-3,5-didesoxy- γ -D-galacto-2-octulopyranosylonsäure-(2,3)- δ -D-lactosyloxy)-(Z)-2-buten-1-yloxy)-methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl]-pentyl}-acridin-9-(10*H*)-on (**95**),
- 10-{5-[4-((4-(*N*-Propionyl-5-amino-3,5-didesoxy- γ -D-galacto-2-octulopyranosylonsäure-(2,3)- δ -D-lactosyloxy)-(Z)-2-buten-1-yloxy)-methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl]-pentyl}-acridin-9-(10*H*)-on (**96**),
- 10-{5-[4-((4-(*N*-Butyryl-5-amino-3,5-didesoxy- γ -D-galacto-2-octulopyranosylonsäure-(2,3)- δ -D-lactosyloxy)-(Z)-2-buten-1-yloxy)-methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl]-pentyl}-acridin-9-(10*H*)-on (**97**),
- 10-{5-[4-((4-(*N*-Crotonyl-5-amino-3,5-didesoxy- γ -D-galacto-2-octulopyranosylonsäure-(2,3)- δ -D-lactosyloxy)-(Z)-2-buten-1-yloxy)-methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl]-pentyl}-acridin-9-(10*H*)-on (**98**) und
- 10-{5-[4-((4-(*N*-Valeryl-5-amino-3,5-didesoxy- γ -D-galacto-2-octulopyranosylonsäure-(2,3)- δ -D-lactosyloxy)-(Z)-2-buten-1-yloxy)-methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl]-pentyl}-acridin-9-(10*H*)-on (**99**)

wurden in Methanol und das Cholesterol- sowie das Desoxycholsäurederivat

- {4-[1-(2-(5 γ -Cholestan-3 δ -yl)-ethyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl]-methoxy-(Z)-2-buten-1-yloxy}- δ -D-lactosid (**59**) und
- {4-[1-(3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl]-methoxy-(Z)-2-buten-1-yloxy}- δ -D-lactosid (**60**)

in THF gelöst. Das Standardinjektionsvolumen betrug 10 μ L. Für die Messungen wurde ein Gradient von H₂O/MeCN 90:10 (v/v) nach H₂O/MeCN 10:90 (v/v) (0 min: H₂O/MeCN = 90:10, 10 min: H₂O/MeCN = 50:50, 15 min: H₂O/MeCN = 10:90) bei einer Flussrate von 1 mL/min und einer Säulentemperatur von 35 °C eingesetzt. Als stationäre Phase fand eine Säule ZORBAX Eclipse XDB-C18 (4.6 x 150 mm, 5 μ m Partikelgröße) von Agilent Verwendung. Die Detektion erfolgte bei 380 nm für die Acridonderivate bzw. bei 212 nm für die Cholesterol- und Desoxycholsäureverbindungen.

Darüber hinaus wurden die Verbindungen

- 10-{5-[4-(2-Acetamido-2-desoxy- δ -D-glucosyloxy)-(Z)-2-buten-1-yloxy]-pentyl}-acridin-9-(10H)-on (**88**),
- 10-{5-[4-((2-Acetamido-2-desoxy- δ -D-lactosyloxy)-methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl]-pentyl}-acridin-9-(10H)-on (**93**),
- 10-{5-[4-((N-Acetylneuraminsäure-(2,6)-2-acetamido-2-desoxy- δ -D-lactosyloxy)-methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl]-pentyl}-acridin-9-(10H)-on (**94**),
- 10-{5-[4-((4-(N-Butyryl-5-amino-3,5-didesoxy- γ -D-galacto-2-octulopyranosylonsäure-(2,3)- δ -D-lactosyloxy)-(Z)-2-buten-1-yloxy)-methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl]-pentyl}-acridin-9-(10H)-on (**97**),
- {4-[1-(2-(5 γ -Cholestan-3 δ -yl)-ethyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl]-methoxy-(Z)-2-buten-1-yloxy}- δ -D-lactosid (**59**) und
- {4-[1-(3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-yl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl]-methoxy-(Z)-2-buten-1-yloxy}- δ -D-lactosid (**60**)

im Eluenten H₂O/THF 60:40 (v/v) unter ansonsten identischen Bedingungen isokratisch vermessen.

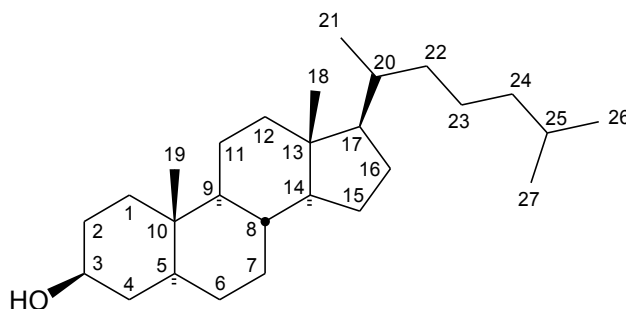
5.3 Cholesterol

5.3.1 5 α -Cholestan-3 β -ol (**6**)

40.0 g (103 mmol) Cholesterol (**2**) werden in 400 mL THF gelöst und mit 800 mg Pd/C (10 %) versetzt. Nach Zugabe von 90 mL Wasser sowie einer katalytischen Menge 70 %iger Perchlorsäure wird 24 h bei 20 bar und RT hydriert. Anschließend wird der Katalysator über Kieselgur abfiltriert, das Filtrat mit Wasser versetzt und das THF i. Vac. entfernt. Das Produkt wird unter vermindertem Druck abfiltriert, mit Wasser gewaschen und getrocknet.

Ausbeute: 39.9 g (103 mmol; quant.) **6** als farbloser Feststoff.

C₂₇H₄₈O: 388.67 g/mol



$R_f = 0.38$ (CH:EE = 2:1 v/v); 0.19 (CH:EE = 4:1 v/v)

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\zeta = 3.57$ (m; 1H; H-3), 2.00 (bs; 1H; OH), 1.97-0.56 (m; 31H), 0.89 (d; $J = 6.5$ Hz; 3H; H-21), 0.87 (d; $J = 1.5$ Hz; 3H; H-26/H-27), 0.85 (d; $J = 1.5$ Hz; 3H; H-26/H-27), 0.79 (s; 3H; H-19), 0.64 (s; 3H; H-18) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): $\zeta = 71.32$ (C-3), 56.47 (CH), 56.27 (CH), 54.34 (CH), 44.83 (CH), 42.56 (quart.), 40.02 (CH_2), 39.49 (CH_2), 38.13 (CH_2), 36.98 (CH_2), 36.15 (CH_2), 35.77 (CH), 35.48 (CH), 35.42 (quart.), 32.06 (CH_2), 31.44 (CH_2), 28.71 (CH_2), 28.22 (CH_2), 27.97 (CH), 24.19 (CH_2), 23.82 (CH_2), 22.79 (CH_3), 22.53 (CH_3), 21.23 (CH_2), 18.64 (CH_3), 12.29 (CH_3), 12.04 (CH_3) ppm.

5.3.2 3 β -(4-Brom-1-butyloxy)-5 γ -cholestan (7)

Mit NaH in DMF

1.00 g (2.57 mmol) 5 γ -Cholestan-3 δ -ol (**6**) werden in trockenem DMF gelöst und mit 93 mg (3.86 mmol) NaH sowie 2.77 g (12.9 mmol) Dibrombutan versetzt. Die Reaktionsmischung wird 18 h unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wird die Reaktionsmischung mit Wasser versetzt, mit MTBE extrahiert, die vereinigten org. Phasen mit Wasser und ges. NaCl-Lsg. gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und das Lsm. i. Vac. entfernt. Der Rückstand wird chromatographisch getrennt (Kieselgel, CH:EE = 10:1). Laut NMR handelt es sich bei dem isolierten Produkt jedoch nicht um den gewünschten Ether **7**, sondern um Ameisensäure-(5 γ -Cholestan-3 δ -yl)-ester (**8**).

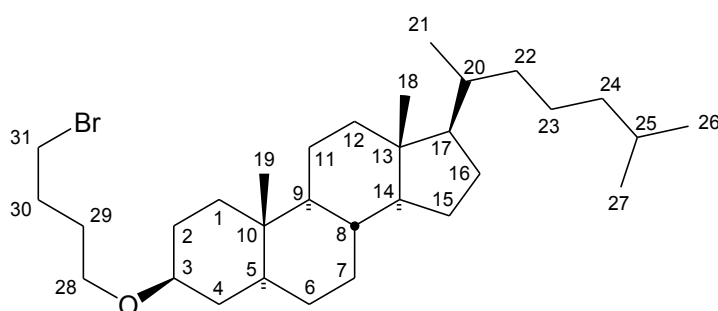
Mit NaH in Toluol

500 mg (1.29 mmol) 5 γ -Cholestan-3 δ -ol (**6**) werden in trockenem Toluol gelöst und mit 47 mg (1.94 mmol) NaH versetzt. Nach 30 min Erhitzen unter Rückfluss werden 1.39 g (6.43 mmol)

Dibrombutan zugesetzt und weitere 36 h unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wird die Reaktionmischung mit Wasser versetzt, mit MTBE extrahiert, die vereinigten org. Phasen mit Wasser und ges. NaCl-Lsg. gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und das Lsm. i. Vac. entfernt. Der Rückstand wird chromatographisch getrennt (Kieselgel, CH:EE = 10:1). Zur Entfernung der letzten Spuren von Dibrombutan wird das Produkt mehrere Tage unter HV getrocknet.

Ausbeute: 240 mg (0.458 mmol; 36 %) **7** als blassgelber Feststoff.

$\text{C}_{31}\text{H}_{55}\text{BrO}$: 523.67 g/mol



$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): ζ = 3.47 (t; J = 6.3 Hz; 2H; H-31), 3.43 (t; J = 6.8 Hz; 2H; H-28), 3.18 (m; 1H; H-3), 1.99-0.79 (m; 35H), 0.99 (d; J = 6.5 Hz; 3H; H-21), 0.87 (d; J = 1.3 Hz; 3H; H-26/27); 0.84 (d; J = 1.4 Hz; 3H; H-26/27), 0.79 (s; 3H; H-19), 0.64 (s; 3H; H-18) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): ζ = 78.63 (C-3), 66.78 (C-28), 56.49 (CH), 56.29 (CH), 54.41 (CH), 44.86 (CH), 42.58 (quart.), 40.04 (CH_2), 39.50 (CH_2), 37.00 (CH_2), 36.16 (CH_2), 35.77 (CH), 35.48 (CH), 34.86 (CH_2), 33.81 (CH_2), 31.11 (CH_2), 29.81 (CH_2), 28.85 (CH_2), 28.80 (CH_2), 28.29 (CH_2), 28.23 (CH_2), 27.99 (CH), 24.20 (CH_2), 28.83 (CH_2), 22.80 (C-26/27), 22.55 (C-26/27), 21.22 (CH_2), 18.65 (C-21), 12.28 (C-19), 12.05 (C-18) ppm.

Mit Ag_2O

250 mg (0.643 mmol) 5γ -Cholestan- 3δ -ol (**6**) werden in trockenem DMF gelöst und mit 298 mg (1.29 mmol) Ag_2O sowie 694 mg (3.22 mmol) Dibrombutan versetzt. Nach 24 h Rühren bei RT zeigt das DC keinerlei Umsatz.

5.3.3 4-(5 α -Cholestan-3 β -yloxy)-buttersäureethylester (9)

Mit K₂CO₃

250 mg (0.643 mmol) 5 γ -Cholestan-3 δ -ol (**6**) werden in trockenem DMF gelöst und mit 178 mg (1.29 mmol) K₂CO₃ sowie 627 mg (3.22 mmol) Brombuttersäureethylester versetzt. Nach 18 h Erhitzen unter Rückfluss zeigt das DC ein komplexes Produktgemisch, das nicht getrennt werden konnte.

Mit Ag₂O

250 mg (0.643 mmol) 5 γ -Cholestan-3 δ -ol werden in trockenem DMF gelöst und mit 298 mg (1.29 mmol) Ag₂O sowie 138 mg (0.707 mmol) Brombuttersäureethylester versetzt. Nach 24 h Rühren bei RT zeigt das DC keinerlei Umsatz.

5.3.4 3 β -(4-Cyano-1-propyloxy)-5 α -cholestan (10)

Mit NaH

250 mg (0.643 mmol) 5 γ -Cholestan-3 δ -ol (**6**) werden in trockenem Toluol gelöst und mit 17 mg (0.707 mmol) NaH versetzt. Nach 30 min Erhitzen unter Rückfluss werden 105 mg (0.707 mmol) Brombuttersäurenitril zugesetzt und weitere 18 h unter Rückfluss erhitzt. Das DC zeigt ein komplexes Produktgemisch, das nicht getrennt werden konnte.

Mit Ag₂O

250 mg (0.643 mmol) 5 γ -Cholestan-3 δ -ol (**6**) werden in trockenem DMF gelöst und mit 298 mg (1.29 mmol) Ag₂O sowie 105 mg (0.707 mmol) Brombuttersäurenitril versetzt. Nach 24 h Rühren bei RT zeigt das DC keinerlei Umsatz.

5.3.5 3 β -Allyloxy-5 α -cholestan (11)

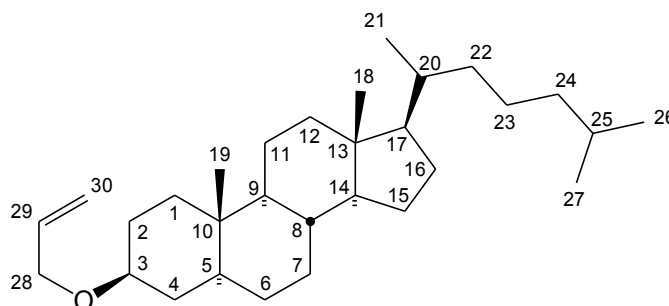
1.00 g (42 mmol) NaH werden in wenig trockenem THF suspendiert und langsam mit einer Lösung aus 7.5 g (19.3 mmol) 5 γ -Cholestan-3 δ -ol (**6**) in trockenem THF versetzt. Die Reaktionsmischung wird 30 min unter Rückfluss erhitzt. Nach Zugabe von 7.00 g (58 mmol) Allylbromid wird weitere 36 h unter Rückfluss erhitzt. Danach wird die Reaktionsmischung mit MTBE versetzt, mit Wasser

und ges. NaCl-Lsg. gewaschen, die org. Phase über MgSO_4 getrocknet und das Lsm. i. Vac. entfernt. Das Rohprodukt wird aus Ethanol umkristallisiert.

Ausbeute: 5.12 g (11.9 mmol; 62 %) **11** als farbloser Feststoff.

$R_f = 0.63$ (CH:EE = 98:2 v/v)

$\text{C}_{30}\text{H}_{52}\text{O}$: 428.73 g/mol



$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\zeta = 5.92$ (ddt; $J = 17.2$ Hz, $J = 10.3$ Hz, $J = 5.6$ Hz; 1H; H-29), 5.26 (dq; $J = 17.2$ Hz; $J = 1.8$ Hz; 2H; H-30), 5.13 (dq; $J = 10.3$ Hz; $J = 1.8$ Hz; 1H; H-30), 1.95 (dt, $J = 12.5$ Hz, $J = 3.3$ Hz, 1H, H-12), 1.80 (m, 1H, H-16), 1.68-0.85 (m; 32H), 0.89 (d; $J = 6.5$ Hz; 3H; H-21), 0.86 (d; $J = 2.2$ Hz; 3H; H-26/27), 0.85 (d; $J = 2.2$ Hz; 3H; H-26/27), 0.74 (s; 3H; H-19), 0.64 (s; 3H; H-18) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): $\zeta = 135.61$ (C-29), 116.32 (C-30), 78.05 (C-3), 68.87 (C-28), 56.50 (CH), 56.28 (CH), 54.41 (CH), 44.85 (CH), 42.58 (quart.), 40.04 (CH_2), 39.50 (CH_2), 37.00 (CH_2), 36.16 (CH_2), 35.78 (CH), 35.76 (quart.), 35.47 (CH), 34.81 (CH_2), 32.11 (CH_2), 28.86 (CH_2), 28.27 (CH_2), 28.23 (CH_2), 27.98 (CH), 24.19 (CH_2), 23.83 (CH_2), 22.79 (C-26/27), 22.54 (C-26/27), 21.21 (CH_2), 18.65 (C-21), 12.25 (C-19), 12.05 (C-18) ppm.

5.3.6 38-(3-Hydroxy-1-propyloxy)-5 α -cholestan (**12**)

200 mg (0.466 mmol) 38-Allyloxy-5 γ -cholestan (**11**) werden in trockenem THF gelöst und mit 1.03 mL (0.513 mmol) 0.5 M 9-BBN-Lsg. (in THF) versetzt. Unter Argonatmosphäre wird die Reaktionslösung 16 h unter Rückfluss erhitzt und anschließend mit 20 %iger wässriger NaOH-Lsg. (w/w) und 30 %iger H_2O_2 -Lsg. (w/w) versetzt. Nach 1 h Erhitzen unter Rückfluss wird die Reaktionsmischung mit ges. NaCl-Lsg. versetzt und mehrmals mit Essigester extrahiert. Die

vereinigten org. Phasen werden über MgSO_4 getrocknet und das Lsm. i. Vac. entfernt. Das NMR zeigt lediglich Signale des Edukts.

5.3.7 5 γ -Cholestan-3 β -yloxy-essigsäure (13)

49 mg (2.06 mmol) NaH werden in wenig trockenem THF suspendiert und langsam mit einer Lösung aus 200 mg (0.515 mmol) 5 γ -Cholestan-3 δ -ol (6) in trockenem THF versetzt. Nach Zugabe von 143 mg (1.03 mmol) Bromessigsäure wird 18 h unter Rückfluss erhitzt. Auf dem DC ist keinerlei Produktbildung zu erkennen.

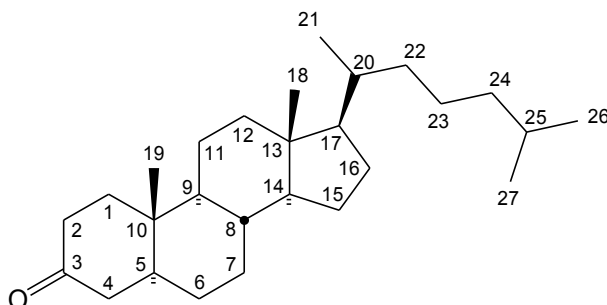
5.3.8 5 γ -Cholestan-3-on (15)

40.0 g (103 mmol) 5 γ -Cholestan-3 δ -ol (6), 5.65 g (10.3 mmol) Cerammoniumnitrat und 15.5 g (92.8 mmol) Kaliumbromat werden in 500 mL Acetonitril:Wasser:Dichlormethan 2:1:1 suspendiert und 4 h unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wird die Reaktionsmischung mit Wasser versetzt und mit MTBE extrahiert. Die vereinigten org. Phasen werden mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lsg. und ges. Natriumchlorid-Lsg. gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und das Lsm. i. Vac. entfernt. Das Rohprodukt wird aus Aceton umkristallisiert.

Ausbeute: 34.8 g (90.0 mmol; 87 %) **15** als farbloser, wachsartiger Feststoff.

$R_f = 0.63$ (CH:EE = 4:1 v/v)

$\text{C}_{27}\text{H}_{46}\text{O}$: 386.65 g/mol



$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\zeta = 2.41\text{--}0.67$ (m; 31H), 1.00 (s; 3H; H19), 0.90 (d; $J = 6.5$ Hz; 3H; H-21), 0.86 (d; $J = 2.2$ Hz; 3H; H-26/H-27), 0.85 (d; $J = 2.2$ Hz; 3H; H-26/H-27), 0.67 (s; 3H; H-18) ppm.

^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3): ζ = 212.07 (C-3), 56.27 (CH), 53.81 (CH), 46.70 (CH), 44.72 (CH_2), 42.58 (quart.), 39.90 (CH_2), 39.49 (CH_2), 38.55 (CH_2), 38.17 (CH_2), 36.14 (CH_2), 35.77 (CH), 35.63 (quart.), 35.39 (CH), 31.71 (CH_2), 28.97 (CH_2), 28.21 (CH_2), 27.99 (CH), 24.21 (CH_2), 23.82 (CH_2), 22.79 (CH_3), 22.54 (CH_3), 21.44 (CH_2), 18.65 (CH_3), 12.05 (CH_3), 11.44 (CH_3) ppm.

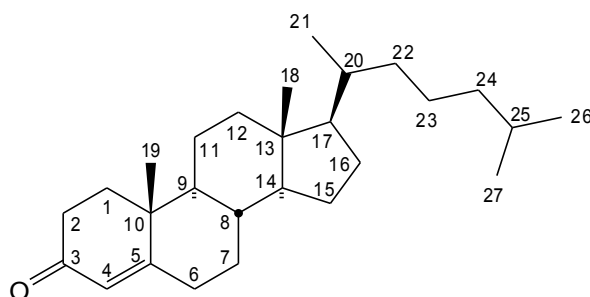
5.3.9 Cholest-4-en-3-on (16)

10.0 g (25.9 mmol) Cholesterol (**2**) werden in 85 mL wasserfreiem Benzol gelöst und mit 85 mL wasserfreiem Aceton versetzt. Es werden 7.30 g (35.7 mmol) Aluminiumtriisopropylat gelöst in 20 mL Benzol hinzugefügt und die Reaktionsmischung 54 h unter Argon zum Rückfluss erhitzt. Danach wird die Lösung mit 20 mL Wasser, 50 mL 10 %iger Schwefelsäure sowie 50 mL Diethylether versetzt. Die Phasen werden getrennt und die organische Phase wird mit Wasser gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und das Lsm. i. Vac entfernt. Der Rückstand wird aus einem Gemisch von 7 mL Aceton und 10 mL Methanol umkristallisiert.

Ausbeute: 8.43 g (21.9 mmol; 85 %) **16** als farbloser, wachsartiger Feststoff.

R_f = 0.61 (CH:EE = 4:1 v/v)

$\text{C}_{27}\text{H}_{44}\text{O}$: 384.64 g/mol



^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3): ζ = 5.70 (s; 1H; H-4), 2.44-0.84 (m; 28H), 1.17 (s; 3H; H19), 0.90 (d; J = 6.5 Hz; 3H; H-21), 0.86 (d; J = 2.2 Hz; 3H; H-26/H-27), 0.84 (d; J = 2.2 Hz; 3H; H-26/H-27), 0.70 (s; 3H; H-18) ppm.

^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3): ζ = 199.49 (C-3), 171.54 (C-5), 123.70 (C-4 u), 56.08 (CH), 55.84 (CH), 53.78 (CH), 42.34 (quart.), 39.59 (CH_2), 39.45 (CH_2), 38.55 (quart.), 36.08 (CH_2), 35.69 (CH), 35.65 (CH_2), 35.58 (CH), 33.93 (CH_2), 32.90 (CH_2), 32.01 (CH_2), 28.12

(CH₂), 27.95 (CH), 24.13 (CH₂), 23.77 (CH₂), 22.76 (CH₃), 22.51 (CH₃), 20.99 (CH₂), 18.59 (CH₃), 17.34 (CH₃), 11.91 (CH₃) ppm.

5.3.10 (5 α -Cholestan-3-yliden)-malonsäure-dimethylester (17)

161 mg (1.55 mmol) Malonsäure werden in Pyridin gelöst und mit 500 mg (1.29 mmol) 5 γ -Cholestan-3-on (**15**) sowie 11 mg (0.13 mmol) Piperidin versetzt. Die Reaktionsmischung wird 24 h unter Rückfluss erhitzt. Auf dem DC ist keinerlei Produktbildung zu erkennen.

5.3.11 (5 α -Cholestan-3-yliden)-malonsäure-dimethylester (18)

500 mg (1.29 mmol) 5 γ -Cholestan-3-on (**15**) werden in Dichlormethan gelöst und mit 255 mg (1.93 mmol) Malonsäuredimethylester, 306 mg (3.87 mmol) Pyridin und 11 mg (0.13 mmol) Piperidin versetzt. Die Reaktionsmischung wird 24 h unter Rückfluss erhitzt. Auf dem DC ist keinerlei Produktbildung zu erkennen.

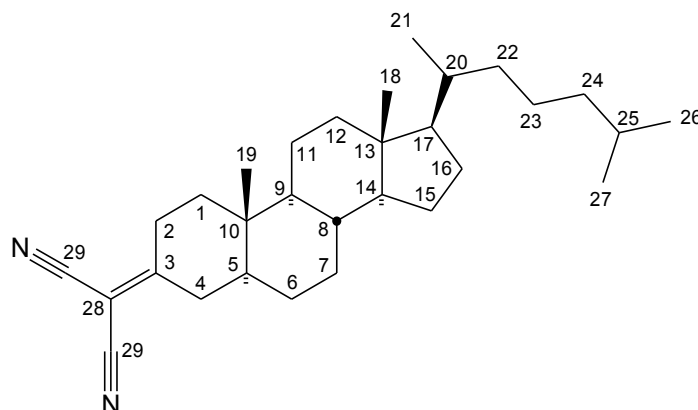
5.3.12 (5 α -Cholestan-3-yliden)-malonsäure-dinitril (19)

500 mg (1.29 mmol) 5 γ -Cholestan-3-on (**15**) werden in Dichlormethan gelöst und mit 127 mg (1.93 mmol) Malonsäuredinitril, 306 mg (3.87 mmol) Pyridin und (0.13 mmol) Piperidin versetzt. Die Reaktionsmischung wird 24 h unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wird mit Dichlormethan verdünnt und mehrmals mit 2 N HCl-Lsg., ges. NaHCO₃-Lsg. und ges. NaCl-Lsg. gewaschen. Die org. Phase wird über MgSO₄ getrocknet, das Lsm. i. Vac. entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (Kieselgel, CH:EE = 10:1) gereinigt.

Ausbeute: 398 mg (0.916 mmol; 71 %) **19** als farblose Blättchen.

R_f = 0.63 (CH:EE = 4:1 v/v)

C₃₀H₄₆N₂: 434.70 g/mol



$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): ζ = 2.93 (m; 1H); 2.67 (m; 1H), 2.47-0.66 (m; 29H), 0.94 (s; 3H; H-19), 0.89 (d; J = 6.5 Hz; 3H; H-21), 0.87 (d; J = 1.2 Hz; 3H; H-26/H-27), 0.84 (d; J = 1.2 Hz; 3H; H-26/H-27), 0.66 (s; 3H; H-18) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): ζ = 184.95 (C-3), 111.77 (C-29), 81.93 (C-29), 56.14 (CH), 56.11 (CH), 53.69 (CH), 46.01 (CH), 42.51 (quart.), 39.72 (CH_2), 39.61 (CH_2), 39.45 (CH_2), 37.21 (CH_2), 36.08 (CH_2), 35.98 (quart.), 35.71 (CH), 35.23 (CH), 31.63 (CH_2), 30.84 (CH_2), 28.71 (CH_2), 28.13 (CH_2), 27.97 (CH), 24.11 (CH_2), 23.76 (CH_2), 22.78 (CH_3), 22.53 (CH_3), 21.28 (CH_2), 18.61 (CH_3), 12.02 (CH_3), 11.81 (CH_3) ppm.

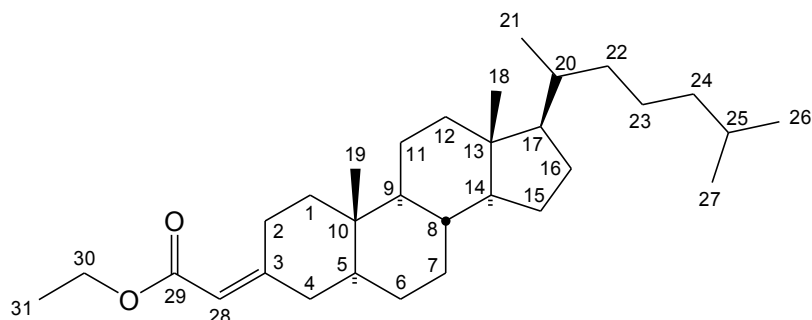
5.3.13 (5 γ -Cholestan-3-yliden)-essigsäure-ethylester (20)

2.8 g (117 mmol) NaH werden in trockenem THF vorgelegt. Bei 0 °C werden 22.2 g (99 mmol) Phosphonoessigsäure-triethylester und nach 30 min 34.8 g (90.0 mmol) 5 γ -Cholestan-3-on (**15**), in trockenem THF gelöst, hinzuge tropft. Die Reaktionsmischung wird noch 1 h bei 0 °C und anschließend 3 h bei RT gerührt. Danach wird die Reaktionsmischung auf Eiswasser gegossen und 1 h gerührt. Es wird mit MTBE extrahiert, die vereinigten org. Phasen mit 2 N Salzsäure und Wasser gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und das Lsm. i. Vac. entfernt. Bei Bedarf kann das Produkt aus Aceton/Wasser umkristallisiert werden.

Ausbeute: 40.5 g (88.3 mmol; 98 %) **20** (E/Z-Gemisch ca. 1:1) als farbloser, wachsartiger Feststoff.

R_f = 0.56 (CH:EE = 10:1 v/v)

$\text{C}_{31}\text{H}_{52}\text{O}_2$: 456.74 g/mol



$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): ζ = 5.57 (m; 1H; H-28), 4.12 (q; J = 7.1 Hz; 2H; H-30), 2.36-0.77 (m; 31H), 1.76 (t; J = 7.1 Hz; 3H; H-31) 0.90 (s; 3H; H-19), 0.90 (d; J = 6.5 Hz; 3H; H-21), 0.86 (d; J = 2.2 Hz; 3H; H-26/H-27), 0.85 (d; J = 2.2 Hz; 3H; H-26/H-27), 0.65 (s; 3H; H-18) ppm.

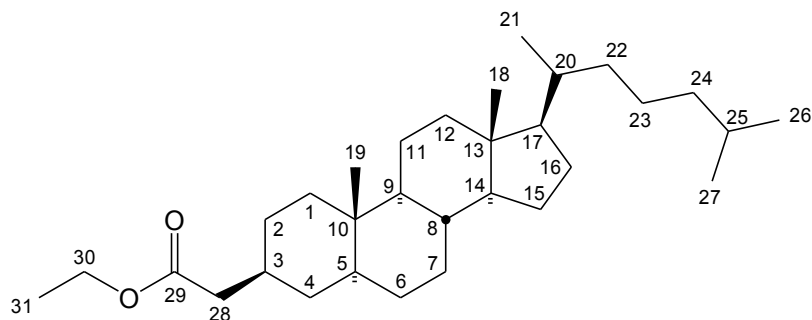
$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): ζ = 166.92/166.87 (C-29) 163.53 (C-3), 112.77/112.51 (C-28), 59.38 (C-30), 56.42 (CH), 56.26 (CH), 54.29/54.22 (CH), 48.28/47.50 (CH), 42.60 (quart.), 40.30/40.06 (CH_2), 39.99 (CH_2), 39.51 (CH_2), 36.16 (CH_2), 36.12/36.07 (quart.), 35.77 (CH), 35.42 (CH), 33.60/32.14 (CH_2), 31.97/31.93 (CH_2), 29.01/28.83 (CH_2), 28.21 (CH_2), 27.99 (CH), 25.48 (CH_2), 24.18 (CH_2), 23.81 (CH_2), 22.79 (CH_3), 22.54 (CH_3), 21.20/21.15 (CH_2), 18.66 (CH_3), 14.32 (C-31), 12.07 (CH_3), 11.95/11.86 (CH_3) ppm.

5.3.14 (5 γ -Cholestan-3 β -yl)-essigsäure-ethylester (21)

2.50 g (5.47 mmol) (5 γ -Cholestan-3-yliden)-essigsäure-ethylester (**20**) werden in THF/Wasser 10:1 gelöst, mit 250 mg Pd/C (10 %) versetzt und 48 h bei 40 °C und 40 bar in Wasserstoffatmosphäre hydriert. Anschließend wird der Katalysator über Kieselgur abfiltriert und das Lsm. i. Vac. entfernt.

Ausbeute: 2.50 g (quant.) **21** als farbloser Feststoff.

$\text{C}_{31}\text{H}_{54}\text{O}_2$: 458.76 g/mol



¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): ζ = 4.11 (q; J = 7.1 Hz; 2H; H-30), 2.17 (d; J = 7.1 Hz; 2H; H-28), 1.95 (dt, J = 12.5 Hz, J = 3 Hz, 1H, H-12), 1.84-0.78 (m; 31H), 1.25 (t; J = 7.1 Hz; 3H; H-31), 0.89 (d; J = 6.6 Hz; 3H; H-21), 0.86 (d; J = 2.2 Hz; 3H; H-26/27), 0.85 (d; J = 2.2 Hz; 3H; H-26/27), 0.75 (s; 3H; H-19); 0.64 (s; 3H; H-18) ppm.

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): ζ = 173.17 (C-29), 60.03 (C-30), 56.55 (C-14), 56.30 (C-17), 54.53 (C-9), 46.40 (C-5), 42.59 (C-13), 42.15 (CH₂), 40.08 (C-12), 39.52 (C-24), 38.32 (C-1), 36.18 (CH₂), 35.80 (CH), 35.77 (C-10), 35.54 (CH), 35.33 (CH), 35.27 (CH₂), 32.08 (C-7), 28.86 (CH₂), 28.57 (CH₂), 28.24 (C-16), 28.00 (C-25), 24.19 (C-15), 23.84 (C-23), 22.80 (C-26/27), 22.55 (C-26/27), 21.01 (C-11), 18.67 (C-21), 14.29 (C-31), 12.26 (C-19), 12.07 (C-18) ppm.

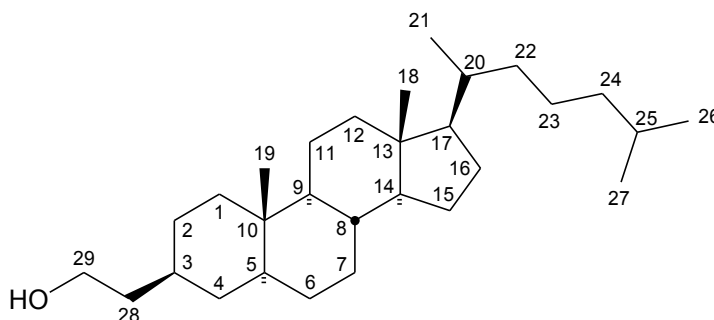
5.3.15 2-(5 γ -Cholestan-3 δ -yl)-ethanol (**35**)

305 mg (8.03 mmol) LAH werden in trockenem THF vorgelegt. Unter intensivem Rühren werden langsam 4.92 g (10.7 mmol) (5 γ -Cholestan-3 δ -yl)-essigsäure-ethylester (**21**) in THF gelöst zugegeben und danach noch 1 h bei RT gerührt. Das überschüssige LAH wird mit 2 N Salzsäure hydrolysiert und das Produkt mit MTBE extrahiert. Die vereinigten org. Phasen werden über MgSO₄ getrocknet, und das Lsm. i. Vac. entfernt.

Ausbeute: 4.47 g (10.7 mmol; 100 %) **35** als farbloser Feststoff.

R_f = 0.44 (CH:EE = 2:1 v/v)

C₂₉H₅₂O: 416.72 g/mol



¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): ζ = 3.69 (t; J = 6.5 Hz; 2H; H-29), 1.95 (dt; J = 12.5 Hz; J = 3 Hz; 1H; H-12), 1.80 (m; 1H; H-16), 1.71-0.84 (m; 32H), 0.90 (d; J = 6.5 Hz; 3H; H-21),

0.87 (d; $J = 2$ Hz; 3H; H-26/27), 0.85 (d; $J = 2$ Hz; 3H; H-26/27), 0.75 (s; 3H; H-19), 0.64 (s; 3H; H-18) ppm.

^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3): $\zeta = 60.99$ (C-29), 56.59 (C-14), 56.34 (C-17), 54.66 (C-9), 46.59 (C-5), 42.61 (C-13), 40.20 (CH_2), 40.11 (C-12), 39.52 (C-24), 38.55 (C-1), 36.19 (CH_2), 36.04 (C-10), 35.81 (CH), 35.71 (CH_2), 35.56 (CH), 34.68 (CH), 32.15 (C-7), 29.01 (CH_2), 28.96 (CH_2), 28.25 (C-16), 28.00 (C-25), 24.20 (C-15), 23.87 (C-23), 22.80 (C-26/27), 22.55 (C-26/27), 21.01 (C-11), 18.67 (C-21), 12.32 (C-19), 12.08 (C-18) ppm.

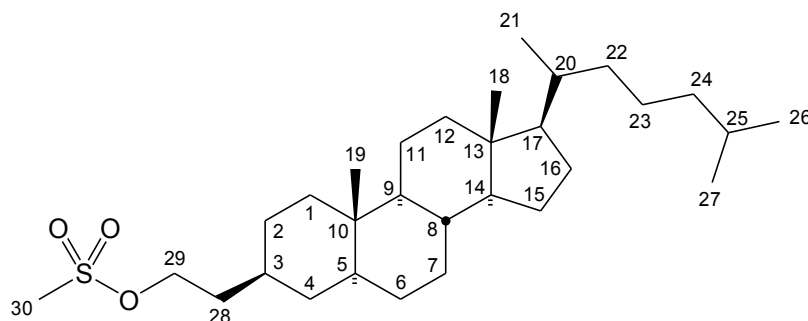
5.3.16 1-(5 γ -Cholestan-3 β -yl)-2-methansulfonyl-ethan (**38**)

3.66 g (8.78 mmol) 2-(5 γ -Cholestan-3 δ -yl)-ethanol (**35**) werden in trockenem THF gelöst und mit 1.78 g (17.6 mmol) Triethylamin sowie 43 mg (0.35 mmol) 4-DMAP versetzt. Bei 0 °C werden 2.01 g (17.6 mmol) Mesylchlorid zugetropft und die Reaktionsmischung 2 h bei RT gerührt. Anschließend wird die Reaktionsmischung mit Wasser versetzt, mit MTBE extrahiert, die vereinigten org. Phasen mit Wasser, 2 N Salzsäure, ges. Natriumhydrogencarbonat-Lsg. und ges. Natriumchlorid-Lsg. gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lsm. i. Vac. entfernt.

Ausbeute: 4.35 g (8.77 mmol; 100 %) **38** als farbloser Feststoff.

$R_f = 0.53$ (CH:EE = 2:1 v/v)

$\text{C}_{30}\text{H}_{54}\text{O}_3\text{S}$: 494.81 g/mol



^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3): $\zeta = 4.26$ (t; $J = 7$ Hz; 2H; H-29), 2.99 (s; 3H; H-30), 1.96 (dt; $J = 13$ Hz; $J = 3$ Hz; 1H; H-12), 1.80 (m; 1H; H-16), 1.71-0.84 (m; 32H), 0.90 (d; $J = 6.5$ Hz; 3H; H-21), 0.86 (d; $J = 2$ Hz; 3H; H-26/27), 0.85 (d; $J = 2$ Hz; 3H; H-26/27), 0.75 (s; 3H; H-19), 0.64 (s; 3H; H-18) ppm.

^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3): ζ = 68.35 (C-29), 56.52 (C-14), 56.27 (C-17), 54.55 (C-9), 46.39 (C-5), 42.57 (C-13), 40.04 (C-12), 39.49 (C-24), 38.31 (C-1), 37.35 (C-30), 36.36 (CH_2), 36.16 (CH_2), 35.95 (C-10), 35.77 (CH), 35.51 (CH), 35.28 (CH_2), 34.39 (CH), 32.05 (C-7), 28.90 (C-6), 28.55 (C-2), 28.21 (C-16), 27.97 (C-25), 24.17 (C-15), 23.81 (C-23), 22.78 (C-26/27), 22.53 (C-26/27), 20.98 (C-11), 18.65 (C-21), 12.26 (C-19), 12.05 (C-18) ppm.

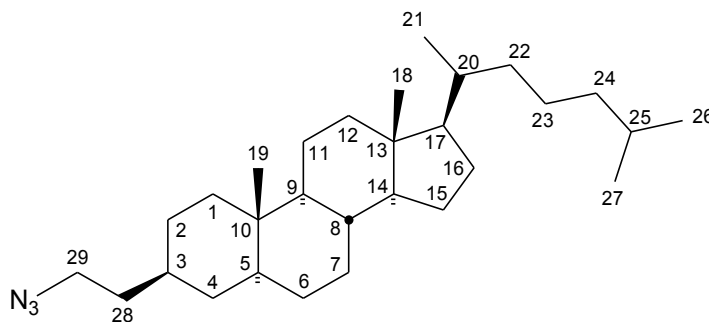
5.3.17 1-Azido-2-(5 γ -cholestan-3 δ -yl)-ethan (40)

3.50 g (7.07 mmol) 1-(5 γ -Cholestan-3 δ -yl)-2-methansulfonyl-ethan (**38**) werden in trockenem Aceton gelöst und mit 1.62 g (14.1 mmol) Natriumazid sowie 56 mg (0.354 mmol) TMGA versetzt und 16 h unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wird die Reaktionsmischung mit Wasser versetzt, mit MTBE extrahiert, die vereinigten org. Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lsm. i. Vac. entfernt.

Ausbeute: 3.12 g (7.06 mmol; 100 %) **40** als farbloser Feststoff.

R_f = 0.78 (CH:EE = 2:1 v/v)

$\text{C}_{29}\text{H}_{51}\text{N}_3$: 441.74 g/mol



^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3): ζ = 3.28 (t; J = 7 Hz; 2H; H-29), 1.96 (dt; J = 13 Hz; J = 3 Hz; 1H; H-12), 1.80 (m; 1H; H-16), 1.71-0.84 (m; 32H), 0.90 (d; J = 6.5 Hz; 3H; H-21), 0.87(d; J = 2.2 Hz; 3H; H-26/27), 0.86 (d; J = 2.2 Hz; 3H; H-26/27), 0.75 (s; 3H; H-19), 0.65 (s; 3H; H-18) ppm.

^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3): ζ = 56.57 (C-14), 56.31 (C-17), 54.61 (C-9), 49.28 (C-29), 46.49 (C-5), 42.61 (C-13), 40.09 (C-12), 39.52 (C-24), 38.41 (C-1), 36.19 (CH_2), 36.03 (CH_2), 36.03 (C-10), 35.80 (CH), 35.55 (CH), 35.46 (CH), 35.38 (CH_2), 32.11 (C-7), 28.97

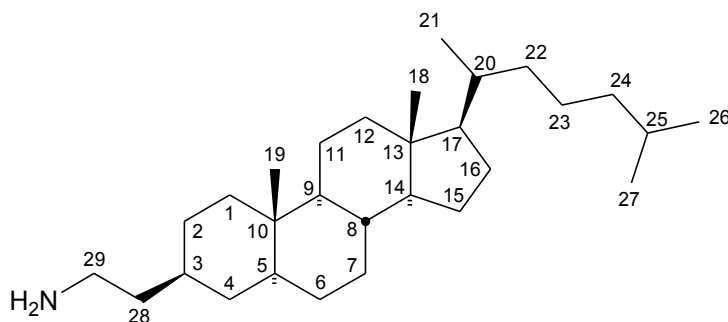
(C-6), 28.66 (C-2), 28.24 (C-16), 28.00 (C-25), 24.20 (C-15), 23.85 (C-23), 22.80 (C-26/27), 22.56 (C-26/27), 21.01 (C-11), 18.67 (C-21), 12.29 (C-19), 12.08 (C-18) ppm.

5.3.18 2-(5 α -Cholestan-3 β -yl)-ethylamin (**42**)

1.36 g (3.08 mmol) 1-Azido-2-(5 γ -Cholestan-3 δ -yl)-ethan (**40**) werden in THF:Wasser 10:1 gelöst und mit 130 mg Lindlar-Kat. versetzt. Anschließend wird 16 h bei RT und 40 bar in Wasserstoffatmosphäre hydriert. Danach wird der Katalysator über Kieselgur abfiltriert und das Lsm. i. Vac. entfernt.

Ausbeute: 1.24 g (2.98 mmol; 97 %) **42** als farbloser Feststoff.

C₂₉H₅₃N: 415.74 g/mol



¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): ζ = 2.71 (t; J = 7.0 Hz; 2H; H-29), 1.95 (dt; J = 12.5 Hz; J = 3.3 Hz; 1H; H-12), 1.80 (m; 1H; H-16), 1.68-0.85 (m; 32H), 0.89 (d; J = 6.5 Hz; 3H; H-21), 0.86 (d; J = 2.2 Hz; 3H; H-26/27), 0.85 (d; J = 2.2 Hz; 3H; H-26/27), 0.74 (s; 3H; H-19), 0.64 (s; 3H; H-18) ppm.

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): ζ = 56.59 (C-14), 56.31 (C-17), 54.68 (C-9), 46.61 (C-5), 42.60 (C-13), 41.32 (C-29), 40.11 (C-12), 39.74 (CH₂), 39.51 (C-24), 38.58 (CH₂), 36.18 (CH₂), 36.07 (C-10), 35.80 (CH), 35.74 (CH₂), 35.68 (CH), 35.55 (CH), 32.16 (C-7), 29.02 (CH₂), 28.97 (CH₂), 28.24 (C-16), 27.99 (C-25), 24.19 (C-15), 23.84 (C-23), 22.79 (C-26/27), 22.54 (C-26/27), 21.00 (C-11), 18.67 (C-21), 12.31 (C-19), 12.07 (C-18) ppm.

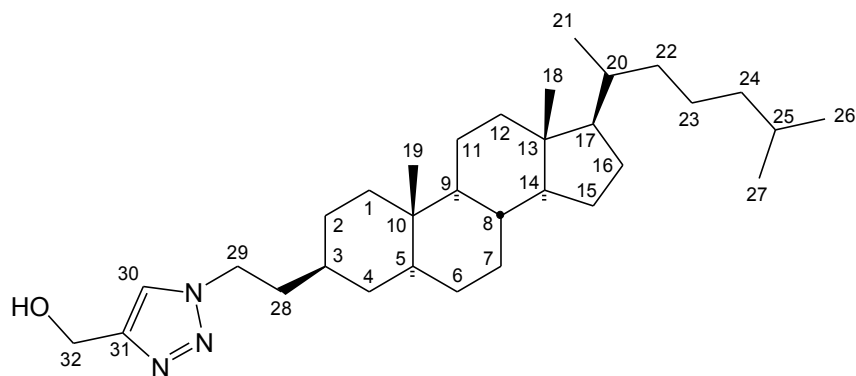
5.3.19 [1-(2-(5 γ -Cholestan-3 δ -yl)-ethyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl]-methanol (**54**)

440 mg (1.00 mmol) 1-Azido-2-(5 γ -Cholestan-3 δ -yl)-ethan (**40**) und 112 mg (2.00 mmol) Propargylalkohol werden in 2 mL *tert.*-BuOH gelöst. Nun werden 1.5 mL H₂O, 250 μ L 0.4 M Natrium-Ascorbat-Lösung und 250 μ L 0.2 M CuSO₄-Lösung hinzugegeben und die Reaktionsmischung 24 h bei RT gerührt. Dann wird mit 10 mL H₂O verdünnt und mit Chloroform extrahiert. Die vereinigten org. Phasen werden über MgSO₄ getrocknet und das Lsm. i. Vac. entfernt. Der Rückstand wird säulenchromatographisch gereinigt (Kieselgel, CH:EE = 1:2 v/v).

Ausbeute: 267 mg (0.536 mmol; 54 %) **54** als farbloser Feststoff.

R_f = 0.20 (CH:EE = 1:2 v/v)

C₃₂H₅₅N₃O: 497.80 g/mol



¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): ζ = 7.53 (s; 1H; H-30), 4.77 (s; 2H; H-32), 4.36 (dd; J = 7.5 Hz, J = 7.4 Hz; 2H; H-29), 3.18 (bs; 1H; OH), 2.00-0.74 (m; 34H), 0.89 (d; J = 6.5 Hz; 3H; H-21), 0.86 (d; J = 2.2 Hz; 3H; H-26/27), 0.85 (d; J = 2.2 Hz; 3H; H-26/27), 0.74 (s; 3H; H-19), 0.63 (s; 3H; H-18) ppm.

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): ζ = 147.58 (C-31), 121.45 (C-30), 56.51 (CH), 56.31 (C-32), 56.26 (CH), 54.51 (CH), 48.34 (C-29), 46.30 (CH), 42.56 (quart.), 40.03 (CH₂), 39.48 (CH₂), 38.22 (CH₂), 37.62 (CH₂), 36.15 (CH₂), 35.96 (quart.), 35.76 (CH), 35.49 (CH), 35.23 (CH), 35.22 (CH₂), 32.02 (CH₂), 28.87 (CH₂), 28.47 (CH₂), 28.20 (CH₂), 27.97 (CH), 24.15 (CH₂), 23.81 (CH₂), 22.77 (C-26/27), 22.52 (C-26/27), 20.97 (CH₂), 18.64 (C-21), 12.25 (C-19), 12.04 (C-18), ppm.

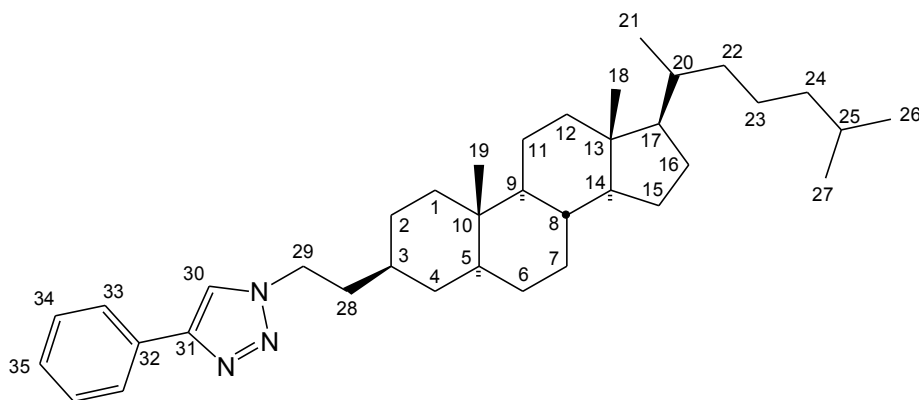
5.3.20 [1-(2-(5 γ -Cholestan-3 δ -yl)-ethyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl]-benzol (**55**)

440 mg (1.00 mmol) 1-Azido-2-(5 γ -Cholestan-3 δ -yl)-ethan (**40**) und 112 mg (1.10 mmol) Phenylacetylen werden in 2 mL *tert.*-BuOH gelöst. Nun werden 1.50 mL H₂O, 250 μ L 0.4 M Natrium-Ascorbat-Lösung und 250 μ L 0.2 M CuSO₄-Lösung hinzugegeben und die Reaktionsmischung 24 h bei RT gerührt. Dann wird mit 10 mL H₂O verdünnt und mit Chloroform extrahiert. Die vereinigten org. Phasen werden über MgSO₄ getrocknet und das Lsm. i. Vac. entfernt. Der Rückstand wird säulenchromatographisch gereinigt (Kieselgel, CH:EE = 4:1 v/v).

Ausbeute: 320 mg (0.588 mmol; 59 %) **55** als farbloser Feststoff

R_f = 0.29 (CH:EE = 4:1 v/v)

C₃₇H₅₇N₃: 543.87 g/mol



¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): ζ = 7.84-7.81 (m; 2H; H-33), 7.73 (s; 1H; H-30), 7.43-7.40 (m; 2H; H-34), 7.32 (tt; J = 7.4 Hz, J = 1.5 Hz; 1H; H-35), 4.41 (dd; J = 7.5 Hz, J = 7.4 Hz; 2H; H-29), 2.07-0.76 (m; 34H), 0.90 (d; J = 6.5 Hz; 3H; H-21), 0.87 (d; J = 2.2 Hz; 3H; H-26/27), 0.86 (d; J = 2.2 Hz; 3H; H-26/27), 0.76 (s; 3H; H-19), 0.64 (s; 3H; H-18) ppm.

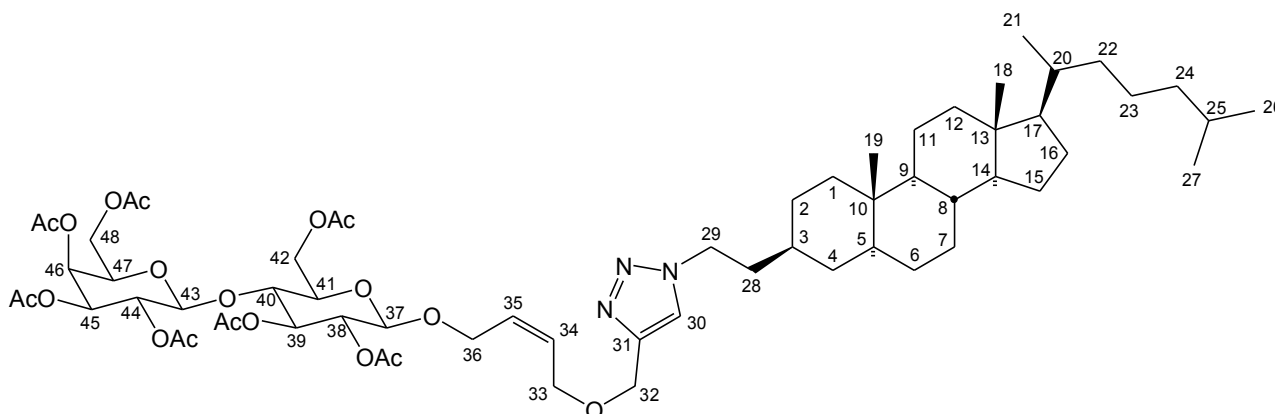
¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃): ζ = 147.68 (C-31), 130.75 (C-32), 128.76 (C-34), 127.99 (C-35), 125.64 (C-33), 119.19 (C-30), 56.50 (CH), 56.26 (CH), 54.51 (CH), 48.27 (C-29), 46.30 (CH), 42.56 (quart.), 40.03 (CH₂), 39.49 (CH₂), 38.24 (CH₂), 37.71 (CH₂), 36.15 (CH₂), 35.96 (quart.), 35.76 (CH), 35.49 (CH), 35.25 (CH), 35.25 (CH₂), 32.02 (CH₂), 28.88 (CH₂), 28.50 (CH₂), 28.20 (CH₂), 27.97 (CH), 24.15 (CH₂), 23.81 (CH₂), 22.78 (C-26/27), 22.53 (C-26/27), 20.97 (CH₂), 18.64 (C-21), 12.26 (C-19), 12.05 (C-18) ppm.

5.3.21 {4-[1-(2-(5 γ -Cholestan-3 δ -yl)-ethyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl]-methoxy-(*Z*)-2-buten-1-yloxy} -hepta-*O*-acetyl- β -D-lactosid (**56**)

200 mg (0.269 mmol) (*Z*)-4-(2-Propinyloxy)-2-buten-1-yl-hepta-*O*-acetyl- δ -D-lactosid (**53**) und 119 mg (0.269 mmol) 1-Azido-2-(5 γ -cholestan-3 δ -yl)-ethan (**40**) werden in 3 mL *tert*.-Butanol gelöst. Anschließend werden 269 μ L 0.4 M Na-Ascorbat-Lsg. und dann 269 μ L 0.1 M CuSO₄-Lsg. hinzugegeben und die Reaktionsmischung 14 h bei RT gerührt. Anschließend wird die Reaktionsmischung mit Wasser versetzt, mehrmals mit Chloroform extrahiert, die vereinigten org. Phasen über MgSO₄ getrocknet und das Lsm. i. Vac. entfernt. Der Rückstand wird säulenchromatographisch (Kieselgel, CH:EE = 1:2) gereinigt.

Ausbeute: 230 mg (0.194 mmol; 72 %) **56**.

C₆₂H₉₅N₃O₁₉: 1186.43 g/mol



¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): ζ = 7.51 (s; 1H; H-30), 5.75 (m; 1H; H-34), 5.65 (m; 1H; H-35), 5.34 (dd; *J* = 3.4 Hz, *J* = 0.9 Hz; 1H; H-46), 5.17 (dd; *J* = 9.7 Hz, *J* = 9.3 Hz; 1H; H-39), 5.09 (dd; *J* = 10.4 Hz, *J* = 7.8 Hz; 1H; H-44), 4.94 (dd; *J* = 10.4 Hz, *J* = 3.5 Hz; 1H; H-45), 4.88 (dd; *J* = 9.5 Hz, *J* = 7.9 Hz; 1H; H-38), 4.60 (s; 2H; H-32), 4.51 (d; *J* = 7.9 Hz; 1H; H-37), 4.49 (dd; *J* = 11.7 Hz; *J* = 2.1 Hz; 1H; H-42a), 4.48 (d; *J* = 7.8 Hz; 1H; H-43), 4.36-4.21 (m; 4H; H-36, H-29), 4.14-4.05 (m; 5H; H-33/H-42b/H-48), 3.86 (ddd; *J* = 7.3 Hz, *J* = 7.3 Hz, *J* = 0.9 Hz; 1H; H-47), 3.79 (dd; *J* = 9.9 Hz, *J* = 9.7 Hz; 1H; H-40), 3.59 (ddd; *J* = 9.9 Hz, *J* = 4.8 Hz, *J* = 2.1 Hz; 1H; H-41), 2.14 (s; 3H; Ac-H), 2.12 (s; 3H; Ac-H), 2.05 (s; 3H; Ac-H), 2.04 (s; 3H; Ac-H), 2.03 (s; 3H; Ac-H), 2.02 (s; 3H; Ac-H), 1.95 (s; 3H; Ac-H), 1.81-0.75 (m; 34H), 0.88 (d; *J* = 6.5 Hz; 3H; H-21), 0.86 (d; *J* = 2.2 Hz; 3H; H-26/27), 0.84 (d; *J* = 2.2 Hz; 3H; H-26/27), 0.75 (s; 3H; H-19), 0.63 (s; 3H; H-18) ppm.

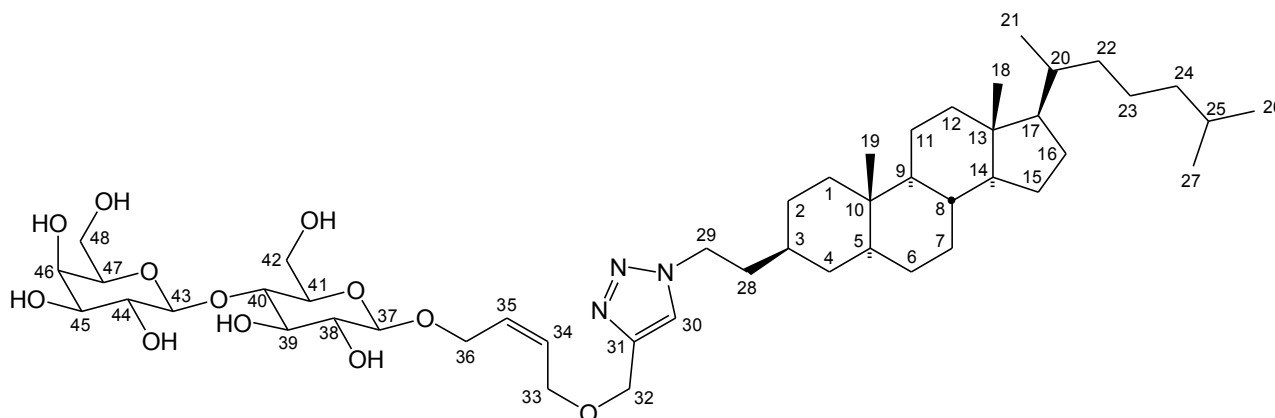
^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3): ζ = 170.29 ($\text{C}=\text{O}_{\text{Ac}}$), 170.28 ($\text{C}=\text{O}_{\text{Ac}}$), 170.09 ($\text{C}=\text{O}_{\text{Ac}}$), 170.00 ($\text{C}=\text{O}_{\text{Ac}}$), 169.71 ($\text{C}=\text{O}_{\text{Ac}}$), 169.58 ($\text{C}=\text{O}_{\text{Ac}}$), 169.04 ($\text{C}=\text{O}_{\text{Ac}}$), 144.81 (C-31), 129.91 (C-34), 128.35 (C-35), 122.11 (C-30), 101.07 (C-43), 99.25 (C-37), 76.20 (CH), 72.84 (CH), 72.60 (CH), 71.61 (CH), 70.98 (CH), 70.66 (CH), 69.09 (CH), 66.60 (CH), 65.84 (CH_2), 64.76 (CH_2), 63.70 (CH_2), 61.93 (CH_2), 60.76 (CH_2), 56.51 (CH), 56.26 (CH), 54.53 (CH), 48.25 (CH_2), 46.32 (CH), 42.57 (quart.), 40.03 (CH_2), 39.48 (CH_2), 38.24 (CH_2), 37.67 (CH_2), 36.15 (CH_2), 35.97 (quart.), 35.76 (CH), 35.50 (CH), 35.29 (CH), 35.22 (CH_2), 32.03 (CH_2), 28.88 (CH_2), 28.50 (CH_2), 28.20 (CH_2), 27.97 (CH), 24.16 (CH_2), 23.80 (CH_2), 22.77 (C-26/27), 22.52 (C-26/27), 20.97 (CH_2), 20.85 (CH_3/OAc), 20.76 (CH_3/OAc), 20.69 (CH_3/OAc), 20.59 (CH_3/OAc), 20.59 (CH_3/OAc), 20.59 (CH_3/OAc), 20.46 (CH_3/OAc), 18.64 (C-21), 12.26 (C-19), 12.04 (C-18) ppm.

5.3.22 {4-[1-(2-(5 γ -Cholestan-3 δ -yl)-ethyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl]-methoxy-(*Z*)-2-buten-1-yloxy} - β -D-lactosid (**59**)

230 mg (0.194 mmol) {4-[1-(2-(5 γ -Cholestan-3 δ -yl)-ethyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl]-methoxy-(*Z*)-2-buten-1-yloxy}-hepta-*O*-acetyl- δ -D-lactosid (**56**) werden in abs. Methanol gelöst und mit einer katalytischen Menge Natriummethanolat versetzt. Nach 2 h zeigt das DC vollständigen Umsatz. Die Reaktionslösung wird mit saurem Ionentauscher versetzt, der nach 15 min Rühren abfiltriert wird. Das Lsm. wird i. Vac. entfernt.

Ausbeute: 173 mg (0.194 mmol; quant.) **59** als farbloser Feststoff.

$\text{C}_{48}\text{H}_{81}\text{N}_3\text{O}_{12}$: 892.17 g/mol



^1H -NMR (500 MHz, d_8 -THF): ζ = 7.84 (s; 1H; H-30), 5.68 (m; 1H; H-34), 5.61 (m; 1H; H-35), 4.49 (s; 2H; H-32), 4.34-4.30 (m; 5H), 4.06 (d; J = 6.3 Hz; 2H; H-48), 3.83-3.36 (m;

12H), 3.2 (m; 1H), 1.95-0.69 (m; 34H), 0.83 (d; $J = 6.5$ Hz; 3H; H-21), 0.78 (d; $J = 2.2$ Hz; 3H; H-26/27), 0.77 (d; $J = 2.2$ Hz; 3H; H-26/27), 0.69 (s; 3H; H-19), 0.58 (s; 3H; H-18) ppm.

^{13}C -NMR (125 MHz, $\text{d}_8\text{-THF}$): $\zeta = 145.61$ (C-31), 130.28 (C-34), 129.99 (C-35), 124.36 (C-30), 104.40 (C-43), 102.76 (C-37), 80.12 (CH), 76.66 (CH), 76.13 (CH), 75.92 (CH), 74.10 (CH), 74.04 (CH), 72.13 (CH), 69.75 (CH), 66.74 (CH_2), 65.68 (CH_2), 64.07 (CH_2), 62.12 (CH_2), 61.52 (CH_2), 57.64 (CH), 57.41 (CH), 55.73 (CH), 48.80 (CH_2), 47.45 (CH), 43.51 (quart.), 41.18 (CH_2), 40.45 (CH_2), 39.38 (CH_2), 38.55 (CH_2), 37.17 (CH_2), 36.86 (quart.), 36.83 (CH), 36.59 (CH), 36.28 (CH), 36.12 (CH_2), 33.13 (CH_2), 29.84 (CH_2), 29.25 (CH_2), 29.14 (CH_2), 28.93 (CH), 25.08 (CH_2), 24.81 (CH_2), 23.27 (C-26/27), 23.03 (C-26/27), 21.94 (CH_2), 19.28 (C-21), 12.79 (C-19), 12.61 (C-18) ppm.

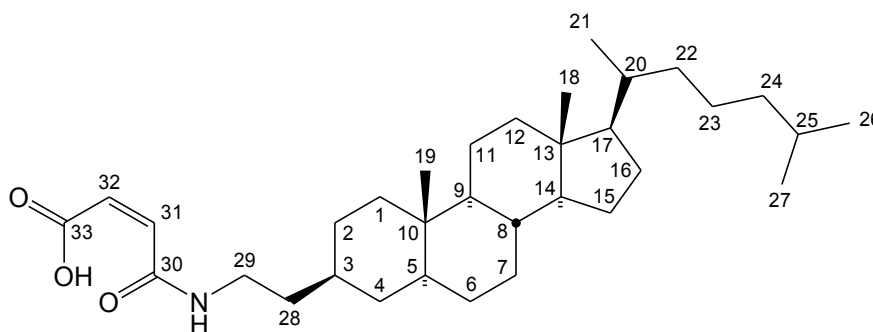
5.3.23 *N*-(2-(5 γ -Cholestan-3 δ -yl)-ethyl)-maleinsäuremonoamid (77)

1.66 g (4.00 mmol) 2-(5 γ -Cholestan-3 δ -yl)-ethylamin (**42**) werden in wenig Chloroform gelöst und mit 394 mg (4.00 mmol) Maleinsäureanhydrid versetzt. Nach 2 h Rühren bei RT wird der Niederschlag abfiltriert und mit wenig Chloroform gewaschen. Bei höheren Ansprüchen an die Reinheit wird das Produkt säulenchromatographisch (Kieselgel, $\text{CHCl}_3\text{:MeOH} = 10\text{:}1$ v/v, mit 1 % Essigsäure) gereinigt.

Ausbeute: 1.94 g (3.78 mmol; 94 %) **77** als farbloser Feststoff.

$R_f = 0.36$ ($\text{CHCl}_3\text{:MeOH} = 10\text{:}1$ v/v, mit 1 % Essigsäure)

$\text{C}_{33}\text{H}_{55}\text{NO}_3$: 513.79 g/mol



$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): ζ = 8.89 (bs; NH), 6.37 (d; J = 12.8 Hz; 1H; H-31), 6.15 (d; J = 12.8 Hz; 1H; H-32), 3.22 (m; 2H; H-29), 1.87 (dt; J = 12.5 Hz; J = 3.3 Hz; 1H; H-12), 1.75-0.76 (m; 33H), 0.81 (d; J = 6.5 Hz; 3H; H-21), 0.78 (d; J = 2.2 Hz; 3H; H-26/27), 0.76 (d; J = 2.2 Hz; 3H; H-26/27), 0.67 (s; 3H; H-19), 0.56 (s; 3H; H-18) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): ζ = 165.45 (C-33), 164.86 (C-30), 134.31 (C-31), 131.57 (C-32), 55.87 (C-14), 55.60 (C-17), 53.93 (C-9), 45.83 (C-5), 41.93 (C-13), 39.40 (C-12), 38.83 (CH_2), 37.76 (CH_2), 37.49 (CH_2), 35.50 (CH_2), 35.41 (CH_2), 35.37 (C-10), 35.09 (CH), 35.03 (CH), 34.86 (CH), 34.74 (CH_2), 31.45 (C-7), 28.31 (CH_2), 28.00 (CH_2), 27.57 (C-16), 27.30 (C-25), 23.53 (C-15), 23.14 (C-23), 22.21 (C-26/27), 21.95 (C-26/27), 20.34 (C-11), 18.04 (C-21), 11.69 (C-19), 11.46 (C-18) ppm.

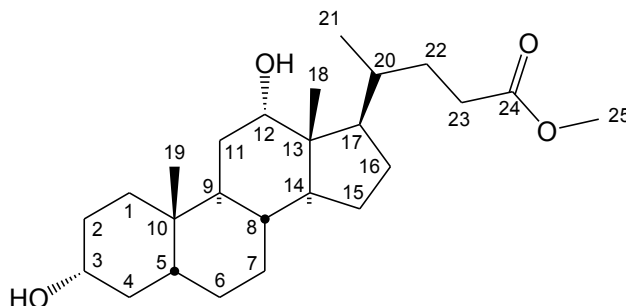
5.4 Cholsäuren

5.4.1 Desoxycholsäuremethylester (23)

0.1 mL Acetylchlorid (110 mg, 1.4 mmol) werden in 30 mL abs. MeOH vorgelegt und einige Minuten gerührt. Nach Zugabe von 5 g (12.7 mmol) Desoxycholsäure (**4**) rührt man die Reaktionsmischung bei RT. Der Reaktionsverlauf wird dünnschichtchromatographisch (Kieselgel, CHCl_3 : MeOH = 5 : 1) verfolgt. Nachdem das DC kein Edukt mehr zeigt, wird das Lsm. i. Vac entfernt und das Produkt im HV getrocknet.

Ausbeute: 5.19 g (12.8 mmol; quant.) **23** als farbloser Feststoff.

$\text{C}_{25}\text{H}_{42}\text{O}_4$: 406.60 g/mol



¹H-NMR (300 MHz, d₄-MeOH): ζ = 3.95 (m; 1H; H-12), 3.64 (s; 3H; H-25), 3.58 (m; 1H; H-3), 2.43 (bs; 2H; OH), 2.42-0.92 (m; 26H), 0.94 (d; J = 6.3 Hz; 3H; H-21), 0.88 (s; 3H; H-19), 0.65 (s; 3H; H-18) ppm.

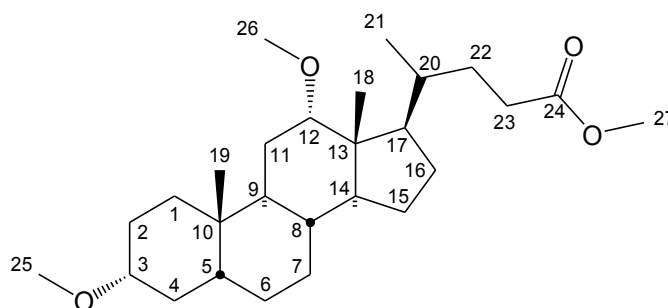
¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃): ζ = 174.70 (C-24), 73.04 (C-12), 71.64 (C-3), 51.45 (C-25), 48.12 (CH), 47.15 (CH), 46.40 (quart.), 41.99 (CH), 36.29 (CH₂), 35.93 (CH), 35.17 (CH₂), 35.15 (CH), 34.04 (quart.), 33.52 (CH), 31.05 (CH₂), 30.82 (CH₂), 30.31 (CH₂), 28.55 (CH₂), 27.44 (CH₂), 27.07 (CH₂), 26.06 (CH₂), 23.61 (CH₂), 23.07 (CH₃), 17.18 (CH₃), 12.65 (CH₃) ppm.

5.4.2 3 α ,12 α -Dimethoxy-5 β -cholansäuremethylester (24)

8.80 g (22.4 mmol) Desoxycholsäure (4) werden in 100 mL abs. THF suspendiert, mit 2.96 g (73.9 mmol) Natriumhydrid (60 % w/w) versetzt und $\frac{1}{2}$ h unter Rückfluss erhitzt. Es werden 9.32 g (73.9 mmol) Dimethylsulfat hinzugegeben und weitere 15 h unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wird die Reaktionsmischung langsam unter Rühren auf Eiswasser gegossen und 1 h gerührt, um überschüssiges Dimethylsulfat zu zerstören. Die Suspension wird mehrmals mit MTBE extrahiert, die vereinigten org. Phasen mit ges. NaCl-Lsg. gewaschen und über MgSO₄ getrocknet und das Lsm. i. Vac. entfernt. Das verbleibende gelbliche Öl wird säulenchromatographisch (Kieselgel, CH:EE = 4:1) getrennt.

Ausbeute: 7.40 g (17.0 mmol; 76 %) **24** als farbloses Öl.

C₂₇H₄₆O₄: 434.65 g/mol



¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): ζ = 3.64 (s; 3H; H-27), 3.36 (m; 1H; H-12), 3.32 (s; 3H; H-25), 3.23 (s; 3H; H-26), 3.13 (m; 1H; H-3), 2.27 (m; 2H), 1.88-0.88 (m; 24H); 0.90 (s; 3H), 0.88 (d; J = 6.3 Hz; 3H; H-21), 0.64 (s; 3H) ppm.

^{13}C -NMR (126 MHz, CDCl_3): ζ = 174.75 (C-24), 82.19 (C-12), 80.43 (C-3), 55.58 (C-26), 55.46 (C-25), 51.37 (C-27), 48.80 (CH), 46.37 (CH), 46.30 (quat), 42.06 (CH), 35.99 (CH), 35.29 (CH_2), 35.05 (CH), 34.44 (quat), 33.50 (CH), 32.57 (CH_2), 30.98 (CH_2), 30.92 (CH_2), 27.36 (CH_2), 27.30 (CH_2), 26.78 (CH_2), 26.06 (CH_2), 23.63 (CH_2), 23.24 (CH_3), 21.91 (CH_2), 17.31 (CH_3), 12.66 (CH_3) ppm.

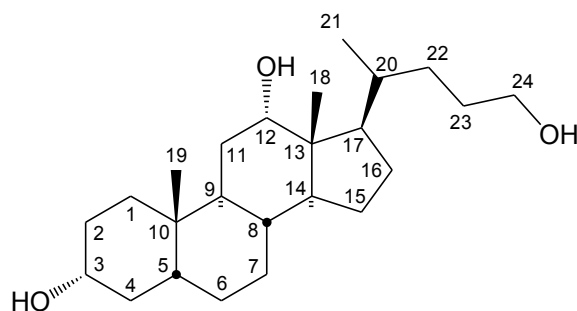
5.4.3 3 α ,12 α -Dihydroxy-5 β -cholan-24-ol (**27**)

1.15 g (30.3 mmol) LAH werden in 200 mL abs. THF suspendiert. Eine Lösung aus 10.0 g (24.6 mmol) Desoxycholsäuremethylester (**23**) in 100 mL abs. THF wird langsam hinzuge tropft und die Reaktionsmischung 1.5 h bei RT gerührt. Anschließend wird überschüssiges LAH mit 2 N Salzsäure vorsichtig hydrolysiert. Die Reaktionsmischung wird mit Wasser versetzt, mehrmals mit MTBE extrahiert, die vereinigten org. Phasen über MgSO_4 getrocknet und das Lsm. i. Vac. entfernt.

Ausbeute: 8.94 g (23.6 mmol; 96 %) **27** als farbloser Feststoff.

R_f = 0.69 (CH:EE = 1:1 v/v)

$\text{C}_{24}\text{H}_{42}\text{O}_3$: 378.59 g/mol



^1H -NMR (300 MHz, d_4 -MeOH): ζ = 3.97 (m; 1H; H-12), 3.51 (m; 3H; H-3, H-24), 1.94-0.93 (m; 26H), 1.02 (d; J = 6.5 Hz; 3H; H-21), 0.93 (s, 3H; H-19), 0.71 (s; 3H; H-18) ppm.

^{13}C -NMR (75 MHz, d_4 -MeOH): ζ = 74.11 (C-12), 72.58 (C-3), 63.64 (C-24), 49.32 (CH), 48.39 (CH), 47.54 (quart.), 43.67 (CH), 37.49 (CH), 37.23 (CH_2), 37.08 (CH), 36.49 (CH_2), 35.37 (quart.), 34.85 (CH), 33.23 (CH_2), 31.10 (CH_2), 30.40 (CH_2), 29.96 (CH_2), 28.81 (CH_2), 28.46 (CH_2), 27.52 (CH_2), 24.93 (CH_2), 23.78 (CH_3), 18.03 (CH_3), 13.28 (CH_3) ppm.

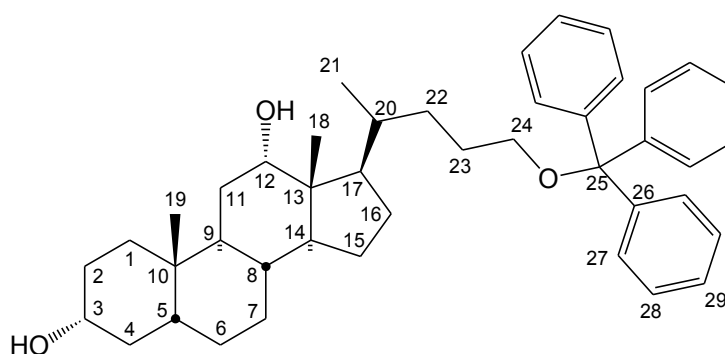
5.4.4 3 γ ,12 γ -Dihydroxy-5 δ -cholan-24-yltritylether (28)

2.85 g (7.51 mmol) 3 γ ,12 γ -Dihydroxy-5 δ -cholan-24-ol (**27**) werden in 100 mL abs. THF gelöst. Unter Eiskühlung wird eine Lösung aus 2.32 g (8.31 mmol) Tritylchlorid in 50 mL Pyridin langsam hinzugetropft. Anschließend wird 14 h unter Rückfluss erhitzt. Es werden 150 mL Wasser hinzugegeben und mehrmals mit MTBE extrahiert. Die vereinigten org. Phasen werden mit 2 N Salzsäure, ges. NaHCO₃-Lsg. und ges. NaCl-Lsg. gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Das Lsm. wird i. Vac. entfernt und der verbleibende Feststoff säulenchromatographisch gereinigt (Kieselgel 60, CH:EE = 4:1 v/v, CH:EE = 1:4 v/v, 1 % Triethylamin).

Ausbeute: 2.78 g (4.48 mmol; 59 %) **28** als farbloser Feststoff.

R_f = 0.65 (CHCl₃:MeOH = 10:1 v/v)

C₄₃H₅₆O₃: 620.90 g/mol



¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): ζ = 7.47-7.43 (m; 6H), 7.32-7.20 (m, 9H), 3.99 (m; 1H; H-12), 3.61 (m; 1H; H-3), 3.03 (m; 2H; H-24), 1.89-0.92 (m; 26H), 0.96 (d; J = 6.5 Hz; 3H; H-21), 0.92 (s, 3H; H-19), 0.67 (s; 3H; H-18) ppm.

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃): ζ = 144.48 (C-26), 128.65 (C-28), 127.64 (C-27), 126.74 (C-29), 86.22 (C-25), 73.20 (C-12), 71.77 (C-3), 64.05 (C-24), 48.23 (CH), 47.57 (CH), 46.42 (quart.), 42.06 (CH), 36.40 (CH₂), 36.01 (CH), 35.24 (CH), 35.20 (CH₂), 34.08 (quart.), 33.62 (CH), 32.20 (CH₂), 30.46 (CH₂), 28.48 (CH₂), 27.49 (CH₂), 27.11 (CH₂), 26.59 (CH₂), 26.11 (CH₂), 23.62 (CH₃), 23.12 (CH₂), 17.65 (CH₃), 12.72 (CH₃) ppm.

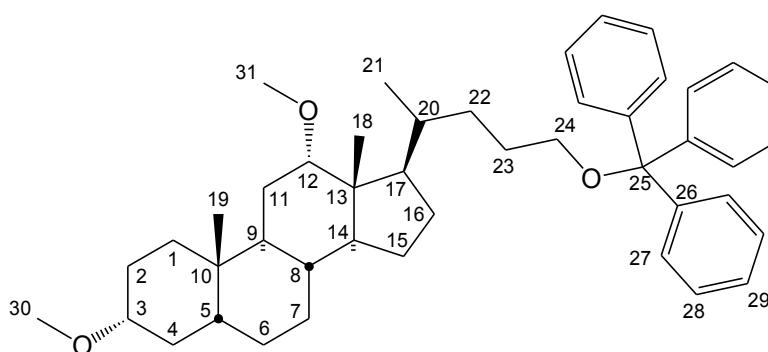
5.4.5 3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-yltritylether (29)

1.12 g (1.78 mmol) 3 γ ,12 γ -Dihydroxy-5 δ -cholan-24-yltritylether (**28**) werden in 50 mL abs. THF gelöst, mit 0.222 g (5.34 mmol) 60 %igem NaH versetzt und $\frac{1}{2}$ h unter Rückfluss erhitzt. Anschließend werden 0.674 g (5.34 mmol) Dimethylsulfat hinzugegeben und 12 h unter Rückfluss erhitzt. Man gibt nochmals die gleichen Mengen NaH und Dimethylsulfat hinzu und erhitzt weitere 12 h. Die Reaktionsmischung wird auf 300 mL Eiswasser gegossen und 1 h gerührt. Das Gemisch wird mehrmals mit MTBE extrahiert, die vereinigten org. Phasen mit ges. NaCl-Lsg. gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lsm. i. Vac. entfernt.

Ausbeute: 0.805 g (1.24 mmol; 69 %) **29** als farbloser Feststoff.

$R_f = 0.58$ (CH:EE = 2:1 v/v)

C₄₅H₆₀O₃: 648.96 g/mol



¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): $\zeta = 7.46$ -7.44 (m; 6H; H-27), 7.31-7.27 (m; 6H; H-28), 7.22 (tt; $J = 7.3$ Hz, $J = 2.0$ Hz; 3H; H-29), 3.60 (t; $J = 8$ Hz; 2H; H-24), 3.42 (m; 1H; H-12), 3.35 (s; 3H; H-30), 3.22 (s; 3H; H-31), 3.16 (m; 1H; H-3), 3.03 (m; 2H; H-24), 1.88-0.92 (m; 26H), 0.96 (d; 3H; H-21), 0.92 (s; 3H; H-19), 0.66 (s; 3H; H-18) ppm.

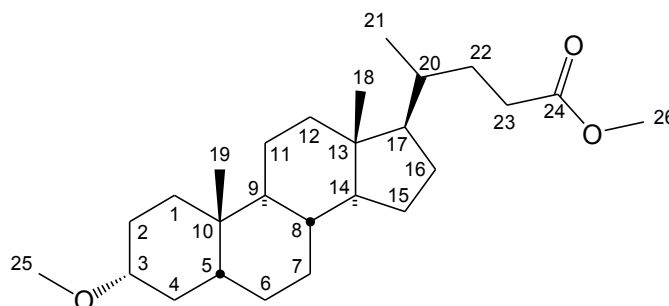
¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): $\zeta = 144.53$ (C-26), 128.69 (C-28), 127.64 (C-27), 126.75 (C-29), 86.27 (C-25), 82.19 (C-12), 80.37 (C-3), 64.09 (C-24), 55.59 (C-31), 55.47 (C-31), 48.19 (CH), 47.57 (CH), 46.45 (quart.), 42.05 (CH), 36.06 (CH), 35.25 (CH), 35.15 (CH₂), 34.45 (quart.), 33.62 (CH), 32.75 (CH₂), 32.23 (CH₂), 28.55 (CH₂), 27.47 (CH₂), 27.28 (CH₂), 26.96 (CH), 26.63 (CH₂), 26.11 (CH₂), 23.65 (CH₂), 23.22 (CH₃), 17.65 (CH₃), 12.72 (CH₃) ppm.

5.4.6 3 Ψ -Methoxy-5 β -cholansäuremethylester (30)

2.00 g (5.32 mmol) Lithocholsäure (**5**) werden in abs. THF suspendiert, mit 402 mg (15.9 mmol) Natriumhydrid (95 % w/w) versetzt und $\frac{1}{2}$ h unter Rückfluss erhitzt. Es werden 2.01 g (15.9 mmol) Dimethylsulfat hinzugegeben und weitere 15 h unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wird die Reaktionsmischung langsam unter Rühren auf Eiswasser gegossen und 1 h gerührt, um überschüssiges Dimethylsulfat zu zerstören. Die Suspension wird mit MTBE extrahiert, die vereinigten org. Phasen über MgSO_4 getrocknet, das Lsm. i. Vac. entfernt und der Rückstand getrocknet.

Ausbeute: 1.94 g (4.78 mmol; 90 %) **30** als farbloser Feststoff.

$\text{C}_{26}\text{H}_{44}\text{O}_3$: 404.63 g/mol



$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): ζ = 3.64 (s; 3H; H-26), 3.33 (s; 3H; H-25), 3.14 (m; 1H; H-3), 2.26 (m; 2H), 1.88-0.87 (m; 26H); 0.89 (s; 3H), 0.87 (d; J = 6.3 Hz; 3H; H-21), 0.61 (s; 3H) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): ζ = 174.68 (C-24), 80.36 (C-3), 56.33 (C-25), 55.79 (CH), 55.43 (CH), 51.36 (C-26), 42.61 (quart.), 41.92 (CH), 40.20 (CH), 40.03 (CH_2), 35.72 (CH), 35.25 (CH), 35.17 (CH_2), 34.77 (quat), 32.61 (CH_2), 30.93 (CH_2), 30.87 (CH_2), 28.07 (CH_2), 27.20 (CH_2), 26.64 (CH_2), 26.26 (CH_2), 24.09 (CH_2), 23.30 (CH_3), 20.69 (CH_2), 18.14 (CH_3), 11.92 (CH_3) ppm.

5.4.7 3 Ψ ,7 Ψ ,12 Ψ -Trimethoxy-5 β -cholansäuremethylester (31)

250 mg (0.612 mmol) Cholsäure (**3**) werden in 10 mL abs. THF suspendiert, mit 73 mg (3.06 mmol) Natriumhydrid versetzt und $\frac{1}{2}$ h unter Rückfluss erhitzt. Es werden 386 mg (3.06 mmol) Dimethylsulfat hinzugegeben und unter Rückfluss erhitzt. Nach 48 h und mehrmaligem Nachdosieren von Natriumhydrid und Dimethylsulfat zeigt das DC noch immer keinen

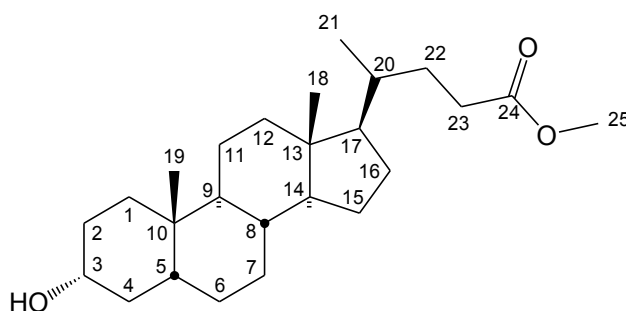
vollständigen Umsatz, so dass die Reaktion abgebrochen wird. Eine Trennung des Produktgemisches ist nicht möglich.

5.4.8 Lithocholsäuremethylester (32)

0.2 mL Acetylchlorid (235 mg, 3 mmol) werden in 100 mL abs. MeOH vorgelegt und einige Minuten gerührt. Nach Zugabe von 11.3 g (30.0 mmol) Lithocholsäure (**5**) rührt man die Reaktionsmischung bei RT. Der Reaktionsverlauf wird dünnschichtchromatographisch (Kieselgel, $\text{CHCl}_3 : \text{MeOH} = 5 : 1$) verfolgt. Nachdem das DC kein Edukt mehr zeigt, wird das Lsm. i. Vac entfernt und das Produkt im HV getrocknet.

Ausbeute: 11.8 g (30.2 mmol) **32** als farbloser Feststoff.

$\text{C}_{25}\text{H}_{42}\text{O}_3$: 390.60 g/mol



$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\zeta = 3.64$ (s; 3H; H-25), 3.60 (m; 1H; H-3), 2.33 (m; 1H), 2.19 (m; 1H), 1.93 (dt; $J = 12.1$ Hz, $J = 3$ Hz; 1H), 1.87-0.88 (m; 25H), 0.90 (s; 3H; H-19), 0.89 (d; $J = 6.3$ Hz; 3H; H-21), 0.62 (s; 3H; H-18) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): $\zeta = 174.71$ (C-24), 71.74 (C-3), 56.44 (CH), 55.91 (CH), 51.40 (C-25), 42.67 (quart.), 42.05 (CH), 40.39 (CH), 40.12 (CH_2), 36.39 (CH_2), 35.79 (CH), 35.31 (CH), 34.51 (quart.), 31.00 (CH_2), 30.95 (CH_2), 30.48 (CH_2), 28.12 (CH_2), 27.15 (CH_2), 26.37 (CH_2), 24.15 (CH_2), 23.32 (CH_3), 20.77 (CH_2), 18.21 (CH_3), 11.98 (CH_3) ppm.

5.4.9 3 β -(9H-Fluoren-2-yl-carbamoyl)-5 β -cholansäuremethylester (33)

Zu einer Lösung aus 104 mg (0.500 mmol) 9H-Fluoren-2-yl-isocyanat in trockenem THF werden 195 mg (0.500 mmol) Lithocholsäuremethylester (**10**), gelöst in trockenem THF, gegeben. Die

Reaktionsmischung wird 48 h bei RT gerührt. Auf dem DC ist keinerlei Umsatz zu erkennen, die Reaktion wird abgebrochen.

5.4.10 3 α -(1-Naphthyl-carbamoyl)-5 β -cholansäuremethylester (**34**)

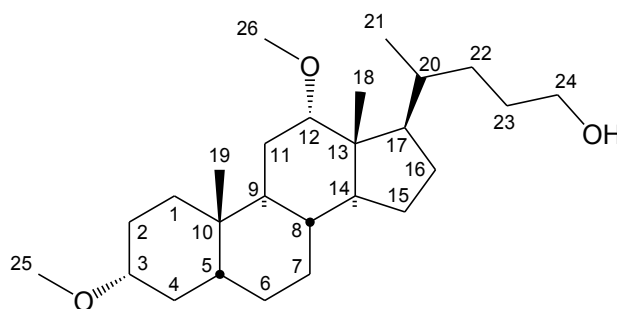
Zu einer Lösung aus 391 mg (1.00 mmol) Lithocholsäuremethylester (**10**) in trockenem THF werden 170 mg (1.00 mmol) 1-Naphthylisocyanat gegeben. Die Reaktionsmischung wird 24 h unter Rückfluss gerührt. Auf dem DC ist keinerlei Umsatz zu erkennen, die Reaktion wird abgebrochen.

5.4.11 3 α ,12 α -Dimethoxy-5 β -cholan-24-ol (**36**)

Zu einer Suspension aus 2.4 g (63 mmol) LAH in wenig abs. THF werden langsam und unter intensivem Rühren 36.6 g (84.2 mmol) 3 γ ,7 γ -Dimethoxy-5 δ -cholansäuremethylester (**24**) gelöst in 300 mL abs. THF gegeben und 90 min bei RT gerührt. Anschließend wird das überschüssige LAH vorsichtig mit 2 N Salzsäure (50 mL) hydrolysiert und die wässrige Suspension mit MTBE (3 x 50 mL) extrahiert. Die vereinigten org. Phasen werden mit ges. NaHCO₃-Lösung (50 mL), Wasser (50 mL) und ges. NaCl-Lösung gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Das Lsm. wird i. Vac. entfernt und der Rückstand im HV getrocknet.

Ausbeute: 32.9 g (80.8 mmol; 96 %) **36** als farbloses Pulver.

C₂₆H₄₆O₃: 406.64 g/mol



¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): ζ = 3.60 (t; J = 8 Hz; 2H; H-24), 3.40 (m; 1H; H-12), 3.32 (s; 3H; H-25), 3.24 (s; 3H; H-26), 3.13 (m; 1H; H-3), 1.89-0.90 (m; 26H), 0.91 (d; J = 6 Hz; 3H; H-21), 0.90 (s; 3H), 0.65 (s; 3H) ppm.

¹³C-NMR (126 MHz, CDCl₃): ζ = 82.27 (C-12), 80.46 (C-3), 63.55 (C-24), 55.60 (C-26), 55.46 (C-25), 48.82 (CH), 46.69 (CH), 46.27 (quat), 42.07 (CH), 36.00 (CH), 35.36 (CH),

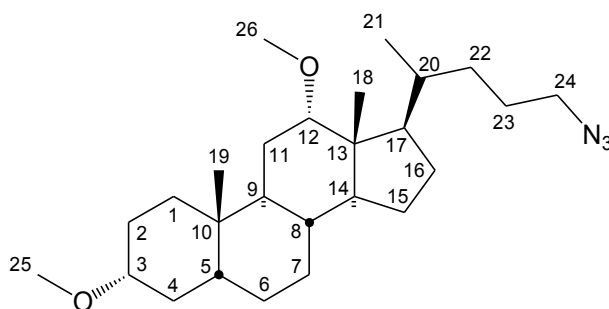
35.30 (CH₂), 34.45 (quat), 33.52 (CH), 32.57 (CH₂), 31.74 (CH₂), 29.46 (CH₂), 27.53 (CH₂), 27.31 (CH₂), 26.77 (CH₂), 26.09 (CH₂), 23.66 (CH₂), 23.26 (CH₃), 21.93 (CH₂), 17.68 (CH₃), 12.68 (CH₃) ppm.

5.4.12 3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-ylazid (**37**)

12.0 g (24.7 mmol) 3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-ylmesylat (**39**) werden in trockenem Aceton gelöst und mit 5.67 g (49.4 mmol) Natriumazid sowie 78 mg (0.494 mmol) TMGA versetzt und 16 h unter Rückfluss gerührt. Anschließend wird die Reaktionsmischung mit Wasser versetzt, mehrmals mit MTBE extrahiert, die vereinigten org. Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lsm. i. Vac. entfernt.

Ausbeute: 10.5 g (24.3 mmol; 98 %) **37** als farbloses Öl.

C₂₆H₄₅N₃O₂: 431.65 g/mol



¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): ζ = 3.37 (t; J = 2.9 Hz; 1H; H-12), 3.33 (s; 3H; H-25), 3.24 (s; 3H; H-26), 3.21 (m; 2H; H-24), 3.13 (m; 1H; H-3), 1.89-0.90 (m; 26H), 0.91 (d; J = 6.5 Hz; 3H; H-21), 0.90 (s; 3H), 0.65 (s; 3H) ppm.

¹³C-NMR (126 MHz, CDCl₃): ζ = 82.22 (C-12), 80.44 (C-3), 55.58 (C-26), 55.47 (C-25), 51.96 (C-24), 48.81 (CH), 46.54 (CH), 46.29 (quat), 42.07 (CH), 36.00 (CH), 35.30 (CH₂), 35.21 (CH), 34.44 (quat), 33.51 (CH), 32.82 (CH₂), 32.58 (CH₂), 27.50 (CH₂), 27.31 (CH₂), 26.78 (CH₂), 26.08 (CH₂), 25.51 (CH₂), 23.64 (CH₂), 23.25 (CH₃), 21.92 (CH₂), 17.63 (CH₃), 12.66 (CH₃) ppm.

5.4.13 3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-ylmesylat (**39**)

10.0 g (24.6 mmol) 3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-ol (**36**) werden in 150 mL abs. THF gelöst. Es werden 4.98 g (49.2 mmol) Triethylamin und 50 mg (0.41 mmol) 4-DMAP hinzugegeben. Unter Eiskühlung werden 5.64 g (49.2 mmol) Mesylchlorid hinzugetropft und die Reaktionsmischung 3 h bei RT gerührt. Nun wird die Reaktionsmischung mit dest. Wasser versetzt und mehrmals mit MTBE extrahiert. Die vereinigten org. Phasen werden mit 2 N Salzsäure, ges. NaHCO₃-Lsg. und ges. NaCl-Lsg. gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Das Lös. wird i. Vac. entfernt.

Ausbeute: 11.9 g (24.5 mmol, 100 %) **39** als farbloses Öl.

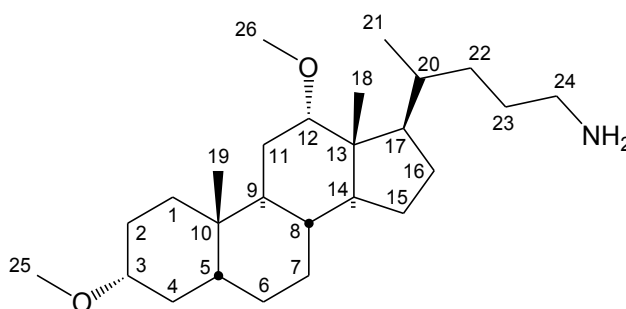
C₂₇H₄₈O₅S: 484.73 g/mol

5.4.14 3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-ylamin (**43**)

10.5 g (24.3 mmol) 3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-ylazid (**37**) werden in THF:Wasser 10:1 gelöst und mit 210 mg Lindlar-Kat. versetzt. Anschließend wird 18 h bei RT und 40 bar hydriert. Danach wird der Katalysator über Kieselgur abfiltriert und das Lsm. i. Vac. entfernt.

Ausbeute: 95.4 g (23.5 mmol; 97 %) **43** als farbloser Feststoff.

C₂₆H₄₇NO₂: 405.66 g/mol



¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): ζ = 3.36 (t; J = 2.9 Hz; 1H; H-12), 3.31 (s; 3H; H-25), 3.23 (s; 3H; H-26), 3.11 (m; 1H; H-3), 2.62 (m; 2H; H-24), 1.89-0.90 (m; 26H), 0.89 (s; 3H), 0.88 (d; J = 6.5 Hz; 3H; H-21), 0.64 (s; 3H) ppm.

¹³C-NMR (126 MHz, CDCl₃): ζ = 82.25 (C-12), 80.43 (C-3), 55.58 (C-26), 55.45 (C-25), 48.80 (CH), 46.68 (CH), 46.26 (quat), 42.74 (C-24), 42.05 (CH), 35.98 (CH), 35.40 (CH), 35.28 (CH₂), 34.43 (quat), 33.50 (CH), 32.96 (CH₂), 32.56 (CH₂), 30.37 (CH₂), 27.54

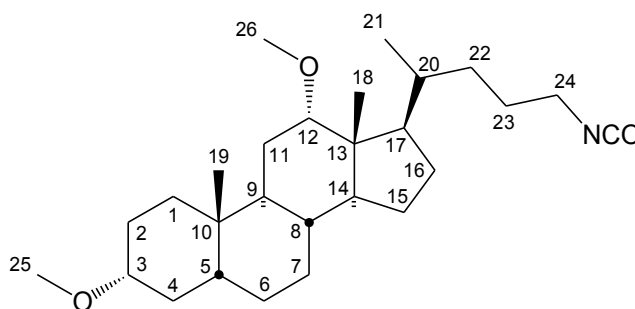
(CH₂), 27.30 (CH₂), 26.75 (CH₂), 26.07 (CH₂), 23.64 (CH₂), 23.24 (CH₃), 21.91 (CH₂), 17.71 (CH₃), 12.65 (CH₃) ppm.

5.4.15 3 γ ,7 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-ylisocyanat (**44**)

406 mg (1.00 mmol) 3 γ ,7 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-ylamin (**43**) werden in Chloroform gelöst. Es wird ges. NaHCO₃-Lsg. zugegeben, so dass ein Zweiphasensystem entsteht. Unter Eiskühlung werden 989 mg (2.00 mmol) Phosgen-Lösung (20 Gew.-% in Toluol) mit einer Spritze zur unteren Phase hinzugegeben. Anschließend wird 30 min bei 0 °C intensiv gerührt. Die Phasen werden getrennt, die wässrige Phase mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten org. Phase über Na₂SO₄ getrocknet und das Lsm. i. Vac. entfernt.

Ausbeute: 436 mg (1.01 mmol; quant.) **44** als farbloser Feststoff.

C₂₇H₄₅NO₃: 431.65 g/mol



¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): ζ = 3.38 (t; J = 2.9 Hz; 1H; H-12), 3.34 (s; 3H; H-25), 3.25 (s; 3H; H-26), 3.25 (t; J = 7.0 Hz; 2H; H-24), 3.14 (m; 1H; H-3), 1.90-0.91 (m; 26H), 0.91 (s; 3H), 0.91 (d; J = 6.5 Hz; 3H; H-21), 0.67 (s; 3H) ppm.

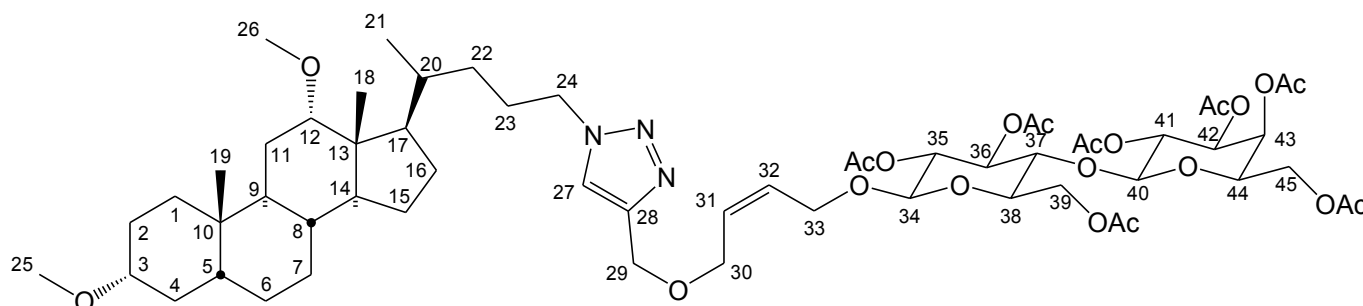
¹³C-NMR (126 MHz, CDCl₃): ζ = 121.93 (NCO), 82.23 (C-12), 80.47 (C-3), 55.61 (C-26), 55.50 (C-25), 48.84 (CH), 46.51 (CH), 46.31 (quat), 43.49 (C-24), 42.08 (CH), 36.02 (CH), 35.32 (CH₂), 35.07 (CH), 34.47 (quat), 33.53 (CH), 32.69 (CH₂), 32.59 (CH₂), 28.03 (CH₂), 27.50 (CH₂), 27.32 (CH₂), 26.81 (CH₂), 26.09 (CH₂), 23.66 (CH₂), 23.27 (CH₃), 21.93 (CH₂), 17.68 (CH₃), 12.68 (CH₃) ppm.

5.4.16 {4-[1-(3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 β -cholan-24-yl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl]-methoxy-(Z)-2-buten-1-yloxy} -hepta-O-acetyl- β -D-lactosid (**57**)

200 mg (0.269 mmol) (Z)-4-(2-Propinyloxy)-2-buten-1-yl-hepta-O-acetyl- δ -D-lactosid (**53**) und 116 mg (0.269 mmol) 3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-ylazid (**37**) werden in 3 mL *tert.*-Butanol gelöst. Anschließend werden 269 μ L 0.4 M Na-Ascorbat-Lsg. und dann 269 μ L 0.1 M CuSO₄-Lsg. hinzugegeben und die Reaktionsmischung 14 h bei RT gerührt. Anschließend wird die Reaktionsmischung mit Wasser versetzt, mehrmals mit Chloroform extrahiert, die vereinigten org. Phasen über MgSO₄ getrocknet und das Lsm. i. Vac. entfernt. Der Rückstand wird säulenchromatographisch (Kieselgel, CH:EE = 1:2) gereinigt.

Ausbeute: 270 mg (0.230 mmol; 85 %) **57**.

C₅₉H₈₉N₃O₂₁: 503.71 g/mol



¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): ζ = 7.52 (s; 1H; H-27), 5.75 (m; 1H; H-31), 5.65 (m; 1H; H-32), 5.33 (dd; J = 3.4 Hz, J = 0.9 Hz; 1H; H-43), 5.17 (dd; J = 9.7 Hz, J = 9.3 Hz; 1H; H-36), 5.09 (dd; J = 10.4 Hz, J = 7.8 Hz; 1H; H-41), 4.94 (dd; J = 10.4 Hz, J = 3.5 Hz; 1H; H-42), 4.88 (dd; J = 9.5 Hz, J = 7.9 Hz; 1H; H-35), 4.60 (s; 2H; H-29), 4.50 (d; J = 7.9 Hz; 1H; H-34), 4.49 (dd; J = 11.7 Hz, J = 2.1 Hz; H-39a), 4.48 (d; J = 7.8 Hz; 1H; H-40), 4.32-4.21 (m; 4H; H-33/H-24), 4.14-4.05 (m; 5H; H-30/H-39b/H-45), 3.86 (ddd; J = 7.3 Hz, J = 7.3 Hz, J = 0.9 Hz; 1H; H-44), 3.79 (dd; J = 9.9 Hz, J = 9.7 Hz; 1H; H-37), 3.59 (ddd; J = 9.9 Hz, J = 4.8 Hz, J = 2.1 Hz; 1H; H-38), 3.36 (t; J = 2.7 Hz; H-12), 3.33 (s; 3H; H-25), 3.23 (s; 3H; H-26), 3.13 (m; 1H; H-3), 2.14 (s; 3H; Ac-H), 2.11 (s; 3H; Ac-H), 2.05 (s; 3H; Ac-H), 2.04 (s; 3H; Ac-H), 2.03 (s; 3H; Ac-H), 2.02 (s; 3H; Ac-H), 1.89-0.90 (m; 26H), 0.89 (s; 3H), 0.88 (d; J = 6.5 Hz; 3H; H-21), 0.64 (s; 3H) ppm.

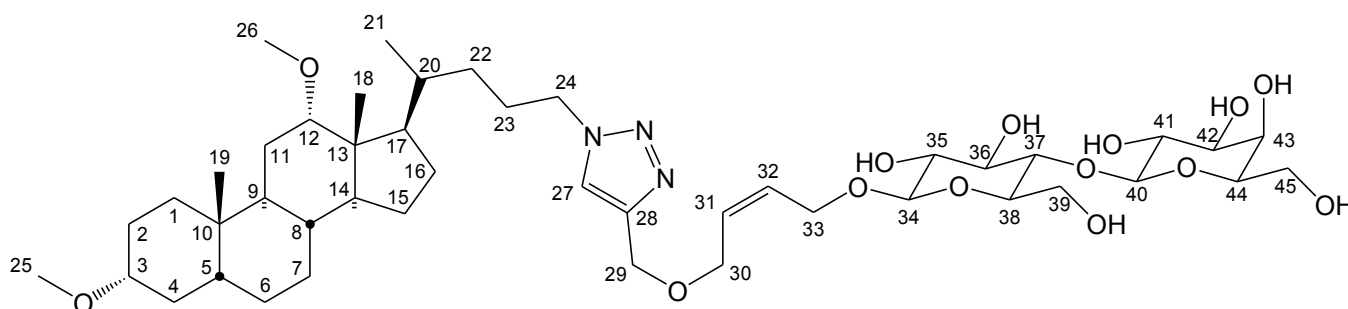
^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3): ζ = 170.31 ($\text{C}=\text{O}_{\text{Ac}}$), 170.30 ($\text{C}=\text{O}_{\text{Ac}}$), 170.09 ($\text{C}=\text{O}_{\text{Ac}}$), 170.00 ($\text{C}=\text{O}_{\text{Ac}}$), 169.71 ($\text{C}=\text{O}_{\text{Ac}}$), 169.59 ($\text{C}=\text{O}_{\text{Ac}}$), 169.04 ($\text{C}=\text{O}_{\text{Ac}}$), 144.76 (C-28), 129.92 (C-31), 128.32 (C-32), 122.22 (C-27), 101.07 (C-40), 99.26 (C-34), 82.16 (C-12), 80.44 (C-3), 76.20 (CH), 72.85 (CH), 72.60 (CH), 71.61 (CH), 70.99 (CH), 70.66 (CH), 69.08 (CH), 66.60 (CH), 65.80 (CH_2), 64.78 (CH_2), 63.68 (CH_2), 61.94 (CH_2), 60.77 (CH_2), 55.57 (C-26), 55.50 (C-25), 50.82 (CH_2), 48.81 (CH), 46.39 (CH), 46.29 (quart.), 42.05 (CH), 35.98 (CH), 35.28 (CH_2), 35.03 (CH), 34.44 (quart.), 33.50 (CH), 32.59 (CH_2), 27.47 (CH_2), 27.29 (CH_2), 27.00 (CH_2), 26.78 (CH_2), 26.07 (CH_2), 23.61 (CH_2), 23.25 (CH_3), 21.89 (CH_2), 20.85 (CH_3), 20.76 (CH_3), 20.69 (CH_3), 20.59 (CH_3), 20.59 (CH_3), 20.46 (CH_3), 17.57 (CH_3), 12.65 (CH_3) ppm.

5.4.17 {4-[1-(3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl]-methoxy-(*Z*)-2-buten-1-yloxy} - β -D-lactosid (**60**)

270 mg (0.230 mmol) {4-[1-(3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl]-methoxy-(*Z*)-2-buten-1-yloxy}-hepta-*O*-acetyl- δ -D-lactosid (**57**) werden in abs. Methanol gelöst und mit einer katalytischen Menge Natriummethanolat versetzt. Nach 2 h zeigt das DC vollständigen Umsatz. Die Reaktionslösung wird mit saurem Ionentauscher versetzt, der nach 15 min Rühren abfiltriert wird. Das Lsm. wird i. Vac. entfernt.

Ausbeute: 202 mg (0.230 mmol; quant.) **60** als farbloser Feststoff.

$\text{C}_{45}\text{H}_{75}\text{N}_3\text{O}_{14}$: 503.71 g/mol



^1H -NMR (500 MHz, d_4 -MeOH): ζ = 7.76 (s; 1H; H-27), 5.59-5.49 (m; 2H; H-31, H-32), 4.38 (s; 2H; H-29), 4.21-4.05 (m; 6H), 3.93 (m; 2H; H-30), 3.72-3.44 (m; 5H), 3.39-3.17 (m; 7H), 3.12 (s; 3H; H-25), 3.06 (s; 3H; H-26), 3.09 (m; 1H; H-30a), 2.99 (m; 1H), 1.83-0.72 (m; 26H), 0.73 (s; 3H), 0.72 (d; J = 6.5 Hz; 3H; H-21), 0.48 (s; 3H) ppm.

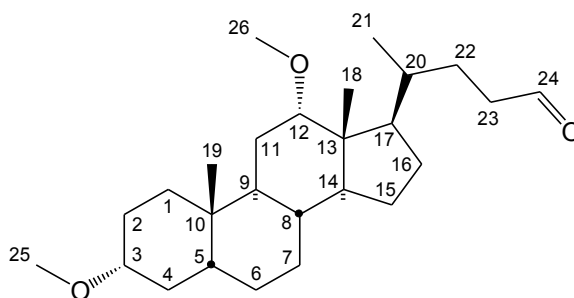
^{13}C -NMR (125 MHz, $\text{d}_4\text{-MeOH}$): ζ = 145.87 (C-28), 130.39 (C-31/C-32), 130.35 (C-31/C-32), 125.10 (C-27), 105.15 (C-40), 103.14 (C-34), 83.75 (C-12), 81.98 (C-3), 80.77 (C-37), 77.11 (C-44), 76.55 (C-38), 76.49 (C-36), 74.85 (C-41), 74.71 (C-42), 72.58 (C-35), 70.32 (C-43), 66.86 (C-30), 65.65 (C-33), 64.05 (C-29), 62.52 (C-45), 62.03 (C-39), 56.13 (C-26), 55.87 (C-25), 51.82 (C-24), 50.27 (CH), 49.90 (CH), 47.84 (CH), 47.58 (quart.), 43.38 (CH), 37.34 (CH), 36.29 (CH), 36.25 (CH_2), 35.49 (quart.), 34.91 (CH), 33.87 (CH_2), 33.68 (CH_2), 28.48 (CH_2), 28.33 (CH_2), 27.95 (CH_2), 27.91 (CH_2), 27.42 (CH_2), 24.72 (CH_2), 23.77 (CH_3), 23.04 (CH_2), 18.30 (CH_3), 13.22 (CH_3) ppm.

5.4.18 3 γ ,12 γ -Dimethoxy-24-oxo-5 δ -cholan (75)

814 mg (2.00 mmol) 3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-ol (**36**) werden in 20 mL Dichlormethan gelöst und mit 906 mg (2.40 mmol) PDC versetzt. Die Reaktionsmischung wird 5 h bei RT gerührt. Der Reaktionsverlauf wird mittels DC (Kieselgel, CH:EE = 1:1) verfolgt. Nach vollständiger Umsetzung wird die Reaktionsmischung mit Ether verdünnt und über Kieselgel filtriert. Das Lsm. wird i. Vac. entfernt.

Ausbeute: 596 mg (1.47 mmol; 74 %) **75**.

$\text{C}_{26}\text{H}_{44}\text{O}_3$: 404.63 g/mol



^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3): ζ = 9.76 (t; J = 1.9 Hz; 1H; H-24); 3.37 (t; J = 2.7 Hz; 1H; H-12), 3.33 (s; 3H; H-25), 3.24 (s; 3H; H-26), 3.14 (m; 1H; H-3), 1.89-0.89 (m; 26H), 0.90 (s; 3H), 0.89 (d; J = 6.5 Hz; 3H; H-21), 0.65 (s; 3H) ppm.

^{13}C -NMR (126 MHz, CDCl_3): ζ = 203.35 (C-24), 82.17 (C-12), 80.43 (C-3), 55.60 (C-26), 55.51 (C-25), 48.82 (CH), 46.39 (CH), 46.31 (quat), 42.04 (CH), 40.82 (C-23), 35.98 (CH), 35.28 (CH_2), 34.99 (CH), 34.45 (quat), 33.49 (CH), 32.55 (CH_2), 27.87 (CH_2), 27.44

(CH₂), 27.29 (CH₂), 26.78 (CH₂), 26.06 (CH₂), 23.63 (CH₂), 23.26 (CH₃), 21.89 (CH₂), 17.41 (CH₃), 12.69 (CH₃) ppm.

5.4.19 *N*-(3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-yl)-7-aminonaphthalin-1,3-disulfonsäure (76)

Aus 3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-ylmesylat (39)

131 mg (0.270 mmol) 3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-ylmesylat (**39**), 185 mg (0.540 mmol) 7-Aminonaphthalin-1,3-disulfonsäure und 54 mg (0.54 mmol) NEt₃ werden in Ethylenglykoldimethylether gelöst und 24 h unter Rückfluss erhitzt. Produktbildung ist auf dem DC nicht zu erkennen.

Aus 3 γ ,12 γ -Dimethoxy-24-oxo-5 δ -cholan (75)

140 mg (0.350 mmol) 3 γ ,12 γ -Dimethoxy-24-oxo-5 δ -cholan (**75**) und 118 mg (0.350 mmol) 7-Aminonaphthalin-1,3-disulfonsäure werden in 2-Propanol gelöst und mit 13 mg (0.350 mmol) NaBH₄ versetzt. Nach 24 h Erhitzen unter Rückfluss kann keinerlei Umsatz beobachtet werden.

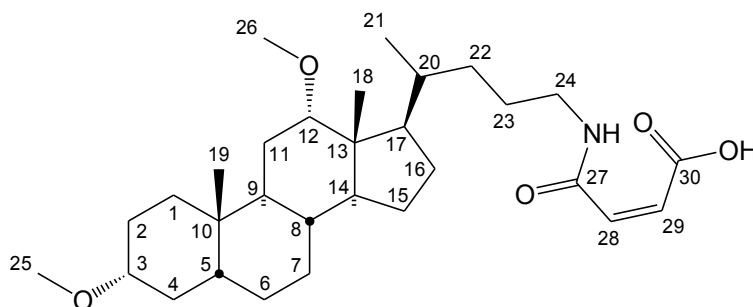
5.4.20 *N*-(3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-yl)-maleinsäuremonoamid (78)

1.62 g (4.00 mmol) 3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-ylamin (**43**) werden in wenig Chloroform gelöst und mit 394 mg (4.00 mmol) Maleinsäureanhydrid versetzt. Nach 2 h Rühren bei RT wird der Niederschlag abfiltriert und mit wenig Chloroform gewaschen. Bei höheren Ansprüchen an die Reinheit wird das Produkt säulenchromatographisch (Kieselgel, CHCl₃:MeOH = 10:1 v/v, mit 1 % Essigsäure) gereinigt.

Ausbeute: 1.85 g (3.67 mmol; 92 %) **78** als farbloser Feststoff.

R_f = 0.35 (CHCl₃:MeOH = 10:1 v/v, mit 1 % Essigsäure)

C₃₀H₄₉NO₅: 503.71 g/mol



¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): ζ = 6.47 (d; J = 12.8 Hz; 1H; H-28), 6.31 (d; J = 12.8 Hz; 1H; H-29), 3.37 (t; J = 2.7 Hz; 1H; H-12), 3.33 (s; 3H; H-25), 3.23 (s; 3H; H-26), 3.15 (m; 1H; H-3), 3.15 (m; 2H; H-24), 1.89-0.90 (m; 26H), 0.89 (s; 3H), 0.88 (d; J = 6.5 Hz; 3H; H-21), 0.64 (s; 3H) ppm.

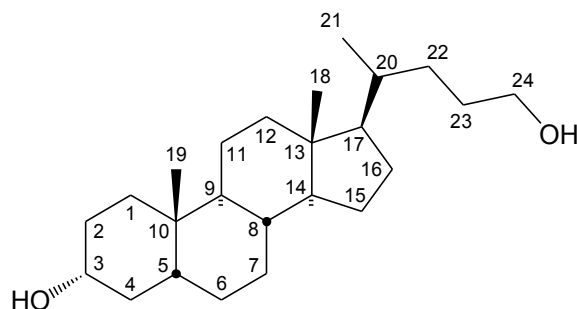
¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): ζ = 169.76 (C-30), 166.10 (C-27), 135.17 (C-28), 132.03 (C-29), 82.26 (C-12), 80.53 (C-3), 55.59 (C-26), 55.50 (C-25), 48.96 (CH), 46.38 (CH), 46.27 (quat), 41.99 (CH), 41.02 (C-24), 35.92 (CH), 35.22 (CH₂), 35.09 (CH), 34.38 (quat), 33.53 (CH), 32.85 (CH₂), 32.58 (CH₂), 27.52 (CH₂), 27.22 (CH₂), 26.76 (CH₂), 26.07 (CH₂), 25.13 (CH₂), 23.60 (CH₂), 23.21 (CH₃), 21.93 (CH₂), 17.55 (CH₃), 12.65 (CH₃) ppm.

5.4.21 3 β -Hydroxy-5 β -cholan-24-ol (**80**)

Zu einer Suspension aus 77 mg (2.1 mmol) LAH in wenig abs. THF werden langsam und unter intensivem Rühren 200 mg (0.512 mmol) Lithocholsäuremethylester (**32**) gelöst in abs. THF gegeben und 90 min bei RT gerührt. Anschließend wird das überschüssige LAH mit 2 N Salzsäure hydrolysiert und die wässrige Suspension mehrmals mit MTBE extrahiert. Die vereinigten org. Phasen werden mit ges. NaHCO₃-Lösung, Wasser und ges. NaCl-Lösung gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Das Lsm. wird i. Vac. entfernt und der Rückstand im HV getrocknet.

Ausbeute: 194 mg (0.512 mmol; quant.) **80** als farbloser Feststoff.

C₂₄H₄₂O₃: 378.59 g/mol



¹H-NMR (300 MHz, d₆-DMSO): ζ = 4.06 (s; OH), 3.30 (m; 3H; H-3, H-24), 1.95-0.86 (m; 28H), 0.87 (d; J = 6.0 Hz; 3H), 0.86 (s; 3H), 0.61 (s; 3H) ppm.

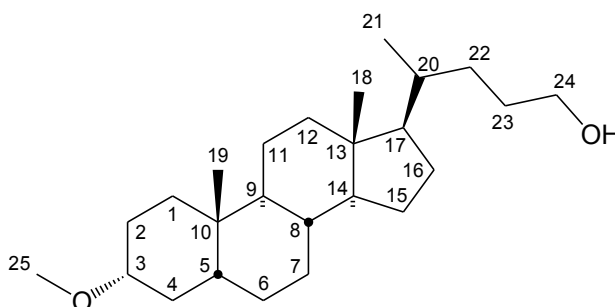
¹³C-NMR (75 MHz, d₆-DMSO): ζ = 70.00 (C-3), 61.37 (C-24), 56.27 (CH), 55.98 (CH), 42.38 (quart.), 41.72 (CH), 40.16 (CH), 39.94 (CH₂), 36.31 (CH₂), 35.57 (CH), 35.31 (CH), 35.26 (CH₂), 34.33 (quart.), 31.91 (CH₂), 30.40 (CH₂), 29.21 (CH₂), 28.01 (CH₂), 27.05 (CH₂), 26.31 (CH₂), 23.98 (CH₂), 23.30 (CH₃), 20.56 (CH₂), 18.57 (CH₃), 11.87 (CH₃) ppm.

5.4.22 3γ-Methoxy-5β-cholan-24-ol (**81**)

Zu einer Suspension aus 137 mg (3.61 mmol) LAH in wenig abs. THF werden langsam und unter intensivem Rühren 1.94 g (4.80 mmol) 3γ-Methoxy-5δ-cholansäuremethylester (**30**) gelöst in 30 mL abs. THF gegeben und 90 min bei RT gerührt. Anschließend wird das überschüssige LAH vorsichtig mit 2 N Salzsäure (50 mL) hydrolysiert und die wässrige Suspension mit MTBE (3 x 50 mL) extrahiert. Die vereinigten org. Phasen werden mit ges. NaHCO₃-Lösung (50 mL), Wasser (50 mL) und ges. NaCl-Lösung gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Das Lsm. wird i. Vac. entfernt und der Rückstand im HV getrocknet.

Ausbeute: 1.77 g (4.70 mmol; 98 %) **81** als farbloser Feststoff.

C₂₅H₄₄O₂: 376.62 g/mol



¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): ζ = 3.59 (t; J = 6.7 Hz; 2H; H-24), 3.32 (s; 3H; H-25), 3.14 (m; 1H; H-3), 1.96-0.86 (m; 28H), 0.90 (d; J = 6.5 Hz; 3H), 0.89 (s; 3H), 0.62 (s; 3H) ppm.

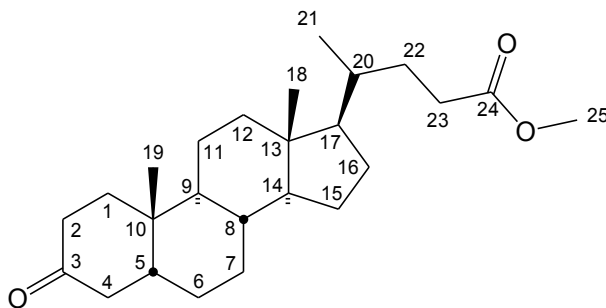
¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃): ζ = 80.38 (C-3), 63.41 (C-24), 56.40 (CH), 56.11 (CH), 55.46 (C-25), 42.61 (quart.), 41.96 (CH), 40.27 (CH), 40.11 (CH₂), 35.76 (CH), 35.56 (CH), 35.22 (CH₂), 34.81 (quart.), 32.66 (CH₂), 31.78 (CH₂), 29.37 (CH₂), 28.25 (CH₂), 27.26 (CH₂), 26.69 (CH₂), 26.34 (CH₂), 24.16 (CH₂), 23.36 (CH₃), 20.74 (CH₂), 18.56 (CH₃), 11.97 (CH₃) ppm.

5.4.23 3-Oxocholansäuremethylester (82)

Es werden 200 mg (0.512 mmol) Lithocholsäure (**5**) in 10 mL CH₂Cl₂ gelöst, mit 300 mg (0.797 mmol) PDC versetzt und 48 h bei RT gerührt. Anschließend wird die Reaktionsmischung mit Ether versetzt und über MgSO₄ filtriert. Das Lsm. wird am Rotationsverdampfer entfernt, der Rückstand in n-Hexan gelöst und filtriert. Das Lsm. wird i. Vac. entfernt und der Rückstand im HV getrocknet.

Ausbeute: 203 mg (0.522 mmol; quant.) **82** als farbloser Feststoff.

C₂₅H₄₀O₃: 388.58 g/mol



¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): ζ = 3.60 (s; 3H; H-25), 2.34-0.84 (m; 28H); 0.95 (s; 3H; H-19), 0.85 (d; J = 6.3 Hz; 3H; H-21), 0.61 (s; 3H; H-18) ppm.

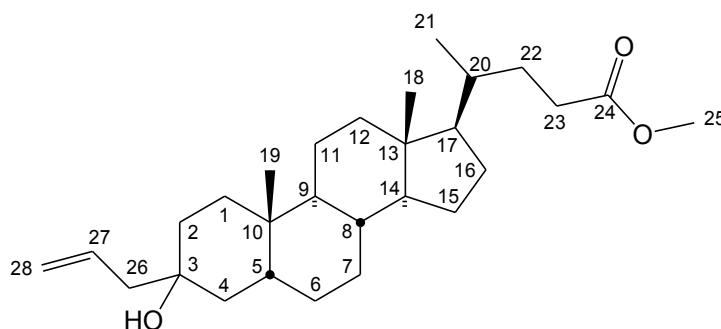
¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃): ζ = 213.53 (C-3), 174.82 (C-24), 56.49 (CH), 56.02 (CH), 51.61 (C-25), 44.42 (CH), 42.84 (quart.), 42.46 (CH₂), 40.76 (CH), 40.11 (CH₂), 37.32 (CH₂), 37.10 (CH₂), 35.59 (CH), 35.43 (CH), 34.96 (quart.), 31.10 (CH₂), 31.04 (CH₂), 28.25 (CH₂), 26.69 (CH₂), 25.85 (CH₂), 24.24 (CH₂), 22.75 (CH₃), 21.67 (CH₂), 18.36 (CH₃), 12.16 (CH₃) ppm.

5.4.24 3-Hydroxy-3-(2-propen-1-yl)-cholansäuremethylester (83)

250 mg (0.643 mmol) 3-Oxocholansäuremethylester (**82**) werden in 10 mL Methanol/Wasser 10:1 (v/v) gelöst und mit 233 mg (1.93 mmol) Allylbromid versetzt. 222 mg (1.93 mmol) Indium werden portionsweise hinzugegeben und die Reaktion 16 h bei RT gerührt. Anschließend wird das Lsm. i. Vac. entfernt, der Rückstand in Wasser aufgenommen und mit MTBE extrahiert. Die vereinigten org. Phasen werden über MgSO_4 getrocknet, das Lsm. i. Vac. entfernt und der Rückstand im HV getrocknet.

Ausbeute: 245 mg (0.569 mmol; 88 %) **83** als farbloses Öl.

C₂₈H₄₆O₃: 430.66 g/mol



¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): ζ = 5.89 (ddt; J = 40.2 Hz, J = 16.9 Hz, J = 7.5 Hz; 1H; H-27), 5.12 (m; 2H; H-28), 3.65 (s; 3H; H-25), 2.39-0.84 (m; 31H); 0.94 (s; 3H; H-19), 0.90 (d; J = 6.3 Hz; 3H; H-21), 0.63 (s; 3H; H-18) ppm.

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃): ζ = 174.76 (C-24), 133.71 (C-27), 118.64 (C-28), 71.47 (C-3), 56.52 (CH), 55.92 (CH), 51.45 (C-25), 48.74 (C-26), 42.72 (quart.), 40.13 (CH₂), 39.66 (CH), 38.10 (CH), 37.72 (CH₂), 35.57 (CH), 35.32 (CH), 34.77 (quart.), 31.93 (CH₂), 31.63 (CH₂), 30.99 (CH₂), 28.15 (CH₂), 26.87 (CH₂), 26.64 (CH₂), 26.28 (CH₂), 24.12 (CH₂), 23.62 (CH₃), 21.04 (CH₂), 18.24 (CH₃), 12.02 (CH₃) ppm.

5.4.25 3-(2-Bromethyliden)-cholansäuremethylester (85)

126 mg (0.515 mmol) Diethyl-2-bromethylphosphonat werden in trockenem THF vorgelegt und mit 62 mg (1.544 mmol) NaH versetzt und 30 min bei RT gerührt. Dann werden 200 mg (0.515 mmol) 3-Oxocholansäuremethylester (**82**) in trockenem THF gelöst zugegeben und 16 h unter Rückfluss

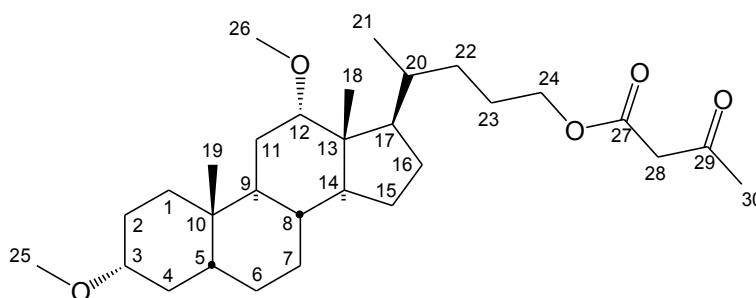
erhitzt. Die Bildung eines Produktes konnte dünnschichtchromatigraphisch nicht nachgewiesen werden.

5.4.26 Acetylessigsäure-(3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-yl)-ester (86)

1000 mg (2.46 mmol) 3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-ol (**36**) werden in trockenem THF gelöst und mit 414 mg (4.92 mmol) Diketen sowie 5 mg 4-DMAP versetzt. Nach 1 h Rühren bei RT wird die Reaktionsmischung mit MTBE versetzt, mit 2 N Salzsäure, ges. NaHCO₃-Lsg. und ges. NaCl-Lsg. gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lsm i. Vac. entfernt.

Ausbeute: 1200 mg (2.45 mmol; 99 %) **86**.

C₃₀H₅₀O₅: 490.72 g/mol



¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): ζ = 4.08 (m; 2H; H-24), 3.41 (s; 2H; H-28), 3.35 (t; J = 2.7 Hz; 1H; H-12), 3.30 (s; 3H; H-25), 3.21 (s; 3H; H-26), 3.11 (m; 1H; H-3), 2.24 (s; 3H; H-30), 1.86-0.87 (m; 26H), 0.88 (s; 3H), 0.87 (d; J = 6.5 Hz; 3H; H-21), 0.63 (s; 3H) ppm.

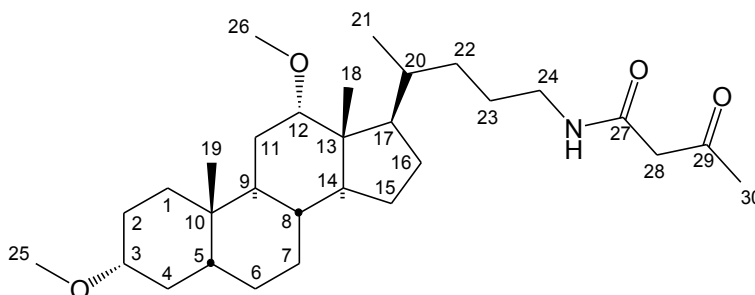
¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): ζ = 200.43 (C-29), 167.08 (C-27), 82.15 (C-12), 80.37 (C-3), 65.96 (C-24), 55.52 (C-26), 55.40 (C-25), 50.04 (C-28), 48.75 (CH), 46.47 (CH), 46.21 (quart.), 41.99 (CH), 35.93 (CH), 35.23 (CH₂), 35.03 (CH), 34.38 (quart.), 33.44 (CH), 32.51 (CH₂), 31.71 (CH₂), 30.01 (C-30), 27.40 (CH₂), 27.24 (CH₂), 26.71 (CH₂), 26.02 (CH₂), 25.01 (CH₂), 23.57 (CH₂), 23.19 (CH₃), 21.85 (CH₂), 17.51 (CH₃), 12.60 (CH₃) ppm.

5.4.27 *N*-(3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 β -cholan-24-yl)-acetylessigsäureamid (87)

500 mg (1.23 mmol) 3 γ ,7 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-ylamin (**43**) werden in trockenem THF gelöst und mit 197 mg (2.32 mmol) Diketen versetzt. Nach 1 h Rühren bei RT wird das Lsm i. Vac. entfernt.

Ausbeute: 584 mg (1.19 mmol; 97 %) **87**.

C₃₀H₅₁NO₄: 489.73 g/mol



¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): ζ = 6.94 (bs; NH), 3.37 (s; 2H; H-28), 3.35 (t; J = 2.7 Hz; 1H; H-12), 3.31 (s; 3H; H-25), 3.22 (s; 3H; H-26), 3.17 (m; 1H; H-3), 3.12 (m; 2H; H-24), 2.24 (s; 3H; H-30), 1.84-0.87 (m; 26H), 0.89 (s; 3H), 0.87 (d; J = 6.5 Hz; 3H; H-21), 0.63 (s; 3H) ppm.

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): ζ = 204.72 (C-29), 165.25 (C-27), 82.19 (C-12), 80.42 (C-3), 55.55 (C-26), 55.43 (C-25), 49.59 (C-28), 48.77 (CH), 46.54 (CH), 46.23 (quart.), 42.02 (CH), 39.98 (C-24), 35.95 (CH), 35.25 (CH₂), 35.10 (CH), 34.41 (quart.), 33.47 (CH), 32.91 (CH₂), 32.53 (CH₂), 30.97 (C-30), 27.44 (CH₂), 27.27 (CH₂), 26.73 (CH₂), 26.04 (CH₂), 25.88 (CH₂), 23.61 (CH₂), 23.21 (CH₃), 21.87 (CH₂), 17.60 (CH₃), 12.63 (CH₃) ppm.

5.5 Acridon

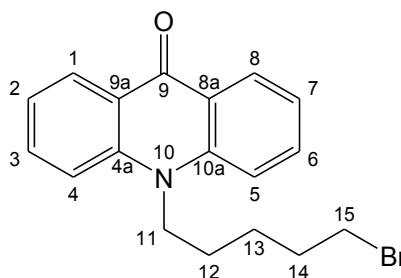
5.5.1 10-(5-Brom-1-pentyl)-acridin-9(10*H*)-on (**45**)

781 mg (4 mmol) Acridon (**1**) werden in trockenem THF suspendiert und mit 106 mg (4.4 mmol) NaH und 30 min unter Rückfluss erhitzt. Anschließend werden 5.52 g (24 mmol) Dibrompentan hinzugefügt und weitere 12 h unter Rückfluss erhitzt. Die Reaktionsmischung wird mit Wasser versetzt, mehrmals mit MTBE extrahiert, die vereinigten org. Phasen mit ges. NaCl-Lsg. gewaschen

und über MgSO_4 getrocknet. Das Lsm. wird i. Vac. entfernt. Das verbleibende gelbe Öl wird säulenchromatographisch (Kieselgel, CH:EE = 4:1, mit 1 % NEt_3) getrennt.

Ausbeute: 1.02 g (2.95 mmol; 74 %) **45** als blassgelber Feststoff.

$\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{BrNO}$: 344.25 g/mol



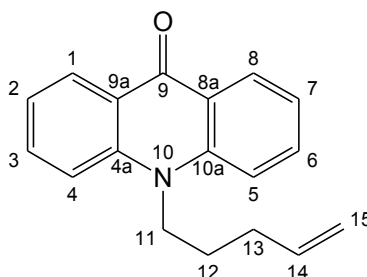
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): ζ = 8.56 (dd; J = 8.0 Hz, J = 1.8 Hz; 2H; H-1/8), 7.71 (ddd; J = 8.7 Hz, J = 6.9 Hz, J = 1.8 Hz; 2H; H-3/6), 7.44 (d; J = 8.7 Hz; 2H; H-4/5), 7.27 (m; 2H; H-2/7), 4.23 (m; 2H; H-11), 3.37 (t; J = 6.5 Hz; 2H; H-15), 1.91 (m; 2H), 1.85 (m; 2H), 1.63 (m; 2H; H-13) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): ζ = 177.82 (C-9), 141.57 (C-4a/10a), 133.86 (C-3/6), 127.93 (C-1/8), 122.40 (C-8a/9a), 121.18 (C-2/7), 114.34 (C-4/5), 45.78 (C-11), 33.22 (C-15), 32.13 (C-14), 26.30 (C-12), 25.36 (C-13) ppm.

Als Nebenprodukt konnte bei der Chromatographie 10-(4-Penten-1-yl)-acridin-9(10H)-on (**48**) isoliert werden.

Ausbeute: 200 mg (0.76 mmol; 19 %) **48** als blassgelber Feststoff.

$\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{NO}$: 263.33 g/mol



$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): ζ = 8.56 (dd; J = 8.0 Hz, J = 1.7 Hz; 2H; H-1/8), 7.69 (ddd; J = 8.7 Hz, J = 7.0 Hz, J = 1.7 Hz; 2H; H-3/6), 7.45 (d; J = 8.7 Hz; 2H; H-4/5), 7.26 (dd;

$J = 8.0 \text{ Hz}$, $J = 7.0 \text{ Hz}$; 2H; H-2/7), 5.94 (ddt; $J = 17.0 \text{ Hz}$, $J = 10.2 \text{ Hz}$, $J = 6.7 \text{ Hz}$; 1H; H-14), 5.17 (ddt; $J = 17.0 \text{ Hz}$, $J = 1.5 \text{ Hz}$, $J = 1.5 \text{ Hz}$; 1H; H-15_E), 5.13 (ddt; $J = 10.2 \text{ Hz}$, $J = 1.5 \text{ Hz}$, $J = 1.5 \text{ Hz}$; 1H; H-15_Z), 4.30 (m; 2H; H-11), 2.31 (tddd; $J = 7.0 \text{ Hz}$, $J = 6.7 \text{ Hz}$, $J = 1.5 \text{ Hz}$, $J = 1.5 \text{ Hz}$; 2H; H-13), 2.00 (m; 2H; H-12) ppm.

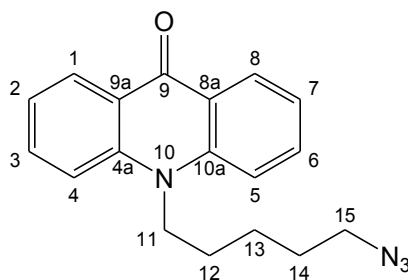
¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): $\zeta = 177.86$ (C-9), 141.65 (C-4a/10a), 136.67 (C-14), 133.81 (C-3/6), 127.91 (C-1/8), 122.42 (C-8a/9a), 121.13 (C-2/7), 116.38 (C-15), 114.44 (C-4/5), 45.38 (C-11), 30.80 (C-13), 25.91 (C-12) ppm.

5.5.2 10-(5-Azido-1-pentyl)-acridin-9(10H)-on (46)

793 mg (2.30 mmol) *N*-(5-Brom-1-pentyl)-acridon (**45**) werden in trockenem Aceton gelöst und mit 302 mg (3.65 mmol) NaN₃ sowie 18 mg (0.115 mmol) TMGA versetzt und 16 h unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wird die Reaktionsmischung mit Wasser versetzt, mit MTBE extrahiert, die vereinigten org. Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lsm. i. Vac. entfernt. Um das Ausfallen des Produktes beim Entfernen des Lsm. zu begünstigen, wird Cyclohexan:Essigester 4:1 (v/v) zugesetzt.

Ausbeute: 706 mg (2.30 mmol; 100 %) **46** als gelber Feststoff.

C₁₈H₁₈N₄O: 306.36 g/mol



¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): $\zeta = 8.55$ (dd; $J = 8.0 \text{ Hz}$, $J = 1.5 \text{ Hz}$; 2H; H-1/8), 7.70 (ddd; $J = 8.7 \text{ Hz}$, $J = 7.0 \text{ Hz}$, $J = 1.5 \text{ Hz}$; 2H; H-3/6), 7.44 (d; $J = 8.7 \text{ Hz}$; 2H; H-4/5), 7.26 (dd; $J = 8.0 \text{ Hz}$, $J = 7.0 \text{ Hz}$; 2H; H-2/7), 4.31 (m; 2H; H-11), 3.34 (t; $J = 6.5 \text{ Hz}$; 2H; H-15), 1.93 (m; 2H), 1.72 (m; 2H), 1.62 (m; 2H; H-13) ppm.

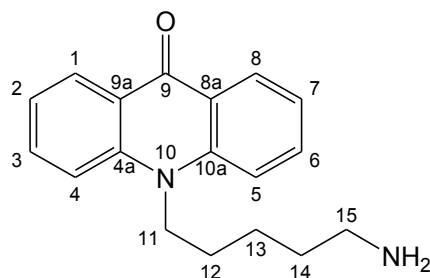
¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): $\zeta = 177.87$ (C-9), 141.63 (C-4a/10a), 133.89 (C-3/6), 127.99 (C-1/8), 122.44 (C-8a/9a), 121.22 (C-2/7), 114.34 (C-4/5), 51.20 (C-15), 45.81 (C-11), 28.69 (C-14), 26.76 (C-12), 24.09 (C-13) ppm.

5.5.3 10-(5-Amino-1-pentyl)-acridin-9(10*H*)-on (47)

543 mg (1.77 mmol) 10-(5-Azido-1-pentyl)-acridin-9(10*H*)-on (**46**) werden in THF:Wasser 10:1 gelöst und mit 54 mg Lindlar-Kat. versetzt. Anschließend wird 16 h bei RT und 40 bar in Wasserstoffatmosphäre hydriert. Danach wird der Katalysator über Kieselgur abfiltriert und das Lsm. i. Vac. entfernt. Das verbleibende gelbe Öl wird säulenchromatographisch (Kieselgel, CHCl₃:MeOH = 5:1, mit 1 % NEt₃) getrennt.

Ausbeute: 475 mg (1.69 mmol; 95 %) **47**.

C₁₈H₂₀N₂O: 280.36 g/mol



¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): ζ = 8.52 (dd; J = 8.0 Hz, J = 1.5 Hz; 2H; H-1/8), 7.66 (ddd; J = 8.7 Hz, J = 7.5 Hz, J = 1.5 Hz; 2H; H-3/6), 7.42 (d; J = 8.7 Hz; 2H; H-4/5), 7.23 (dd; J = 8.0 Hz, J = 7.5 Hz; 2H; H-2/7), 4.26 (m; 2H; H-11), 2.77 (t; J = 6.5 Hz; 2H; H-15), 2.46 (bs; NH), 1.89 (m; 2H), 1.58 (m; 4H) ppm.

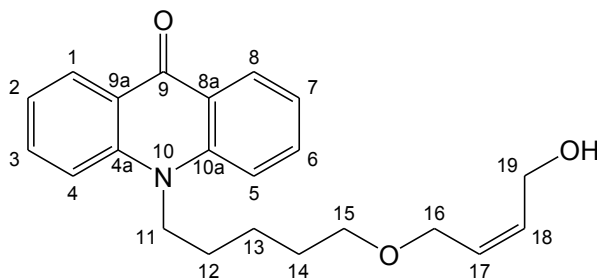
¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): ζ = 177.82 (C-9), 141.59 (C-4a/10a), 133.80 (C-3/6), 127.84 (C-1/8), 122.33 (C-8a/9a), 121.10 (C-2/7), 114.41 (C-4/5), 45.93 (C-11), 41.61 (C-15), 32.64 (C-14), 26.95 (C-12), 24.12 (C-13) ppm.

5.5.4 10-[5-(4-Hydroxy-(Z)-2-buten-1-yloxy)-1-pentyl]-acridin-9(10*H*)-on (49)

34 mg (1.34 mmol) NaH (95 % w/w) werden in trockenem THF vorgelegt und mit 409 mg (4.65 mmol) (Z)-2-Buten-1,4-diol in trockenem THF versetzt. Nach Ende der Gasentwicklung werden 320 mg (0.930 mmol) *N*-(5-Brom-1-pentyl)-acridon (**45**) zugesetzt und die Reaktionsmischung 20 h unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wird die Suspension mit 2 N HCl versetzt, mehrmals mit MTBE extrahiert, die vereinigten org. Phasen über MgSO₄ getrocknet und das Lsm i. Vac. entfernt. Der Rückstand wird säulenchromatographisch (Kieselgel, CH:EE = 1:1-1:2, mit 1 % NEt₃) gereinigt.

Ausbeute: 158 mg (0.450 mmol; 48 %) **49**.

C₂₂H₂₅NO₃: 351.44 g/mol



¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): ζ = 8.55 (dd; J = 8.0 Hz, J = 1.7 Hz; 2H; H-1/8), 7.69 (ddd; J = 8.7 Hz, J = 7.0 Hz, J = 1.8 Hz; 2H; H-3/6), 7.45 (d; J = 8.7 Hz; 2H; H-4/5), 7.26 (dd; J = 8.0 Hz, J = 7.0 Hz; 2H; H-2/7), 5.87 (m; 1H; H-17/18), 5.70 (m; H-17/18), 4.27 (m; 4H; H-11, H-19), 4.08 (m; 2H; H-16), 3.50 (t; J = 6.0 Hz; 2H; H-15), 3.12 (bs; OH), 1.91 (m; 2H), 1.72 (m; 2H), 1.64 (m; 2H) ppm.

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃): ζ = 177.82 (C-9), 141.48 (C-4a/10a), 133.78 (C-3/6), 132.41 (C-17), 127.87 (C-18), 127.67 (C-1/8), 122.15 (C-8a/9a), 121.04 (C-2/7), 114.43 (C-4/5), 69.95 (C-15), 66.41 (C-16), 58.48 (C-19), 45.88 (C-11), 29.23 (C-14), 26.75 (C-12), 23.51 (C-13) ppm.

5.5.5 10-[5-[4-(Hepta-*O*-acetyl- β -D-lactosyloxy)-(Z)-2-buten-1-yloxy]-1-pentyl]-acridin-9(10*H*)-on (**51**)

Unter Argonatmosphäre werden 322 mg (0.460 mmol) Hepta-*O*-acetyl- γ -D-lactosylbromid (**50**) in 2 mL trockenem Dichlormethan gelöst und mit 116 mg (0.460 mmol) Hg(CN)₂ sowie 83 mg (0.230 mmol) HgBr₂ versetzt. Zu der Suspension werden 158 mg (0.450 mmol) 10-[5-(4-Hydroxy-2-buten-1-yloxy)-1-pentyl]-acridin-9(10*H*)-on (**49**) gegeben. Die Reaktionsmischung wird 20 h bei RT gerührt. Auf dem DC ist weder der Verbrauch von des Lactosylbromids **50** noch die Bildung eines Produktes zu erkennen.

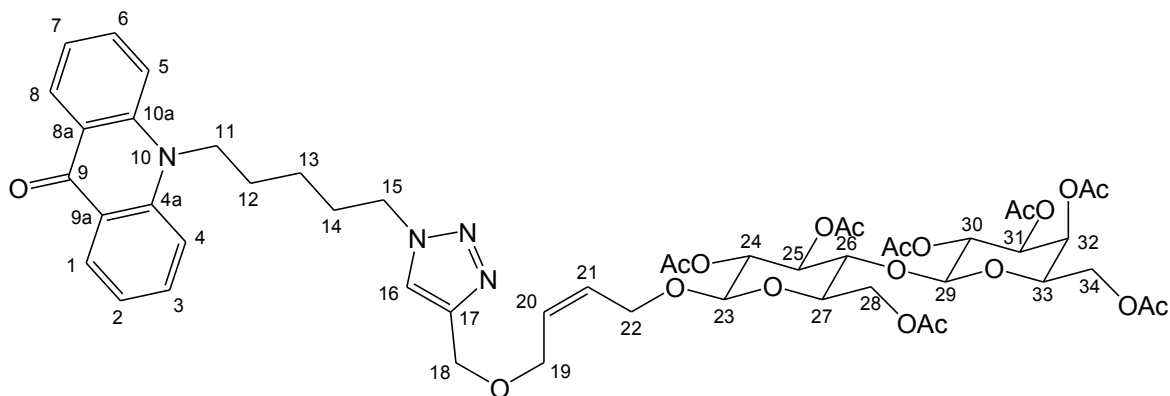
5.5.6 10-{5-[4-((4-(Hepta-*O*-acetyl- β -D-lactosyloxy)-(Z)-2-buten-1-yloxy)-methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl]-pentyl}-acridin-9-(10*H*)-on (**58**)

200 mg (0.269 mmol) (*Z*)-4-(2-Propinyloxy)-2-buten-1-yl-hepta-*O*-acetyl- β -D-lactosid (**53**) und 82 mg (0.269 mmol) 10-(5-Azido-1-pentyl)-acridin-9(10*H*)-on (**46**) werden in 3 mL *tert.*-Butanol gelöst. Anschließend werden 269 μ L 0.4 M Na-Ascorbat-Lsg. und dann 269 μ L 0.1 M CuSO₄-Lsg. hinzugegeben und die Reaktionsmischung 14 h bei RT gerührt. Anschließend wird die Reaktionsmischung mit Wasser versetzt, mehrmals mit Chloroform extrahiert, die vereinigten org. Phasen über MgSO₄ getrocknet und das Lsm. i. Vac. entfernt. Der Rückstand wird säulenchromatographisch (Kieselgel, CH:EE = 1:4) gereinigt.

Ausbeute: 177 mg (0.168 mmol; 62 %) **58**.

R_f = 0.46 (CH:EE = 1:4 v/v)

C₅₁H₆₂N₄O₂₀: 1051.05 g/mol



¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): ζ = 8.52 (dd; J = 8.0 Hz, J = 1.7 Hz; 2H; H-1/8), 7.66 (ddd; J = 8.7 Hz, J = 7.0 Hz, J = 1.7 Hz; 2H; H-3/6), 7.48 (s; 1H; H-16), 7.40 (d; J = 8.7 Hz; 2H; H-4/5), 7.23 (dd; J = 8.0 Hz, J = 7.0 Hz; 2H; H-2/7), 5.71 (m; 1H; H-20), 5.66 (m; 1H; H-21), 5.28 (dd; J = 3.5 Hz, J = 0.9 Hz; 1H; H-32), 5.11 (dd; J = 9.5 Hz, J = 9.5 Hz; 1H; H-25), 5.03 (dd; J = 10.4 Hz, J = 7.9 Hz; 1H; H-30), 4.89 (dd; J = 10.4 Hz, J = 3.5 Hz; 1H; H-31), 4.82 (dd; J = 9.5 Hz, J = 8.0 Hz; 1H; H-24), 4.56 (s; 2H; H-18), 4.45 (d; J = 8.0 Hz; 1H; H-23), 4.44 (m; 1H; H-28a), 4.42 (d; 1H; H-29), 4.36 (m; 2H; H-11), 4.30-4.22 (m; 3H; H-15, H-22a), 4.18 (m; 1H; H-22b), 4.11-3.97 (m; 5H; H-19, H-28b, H-34), 3.81 (td; J = 7.3 Hz, J = 0.9 Hz; 1H; H-33), 3.78 (dd; J = 9.6 Hz, J = 9.5 Hz; 1 H; H-26), 3.52 (m; 1 H; H-27), 2.07 (s; 3H; Ac-H), 2.05 (s;

3H; Ac-H), 1.98 (s; 3H; Ac-H), 1.97 (s; 3H; Ac-H), 1.96 (s; 3H; Ac-H), 1.89 (s; 3H; Ac-H), 1.98 (m; 2H; H-14), 1.93 (m; 2H; H-12), 1.52 (m; 2H; H-13) ppm.

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): ζ = 178.1 (C-9), 170.7 (C=O_{Ac}), 170.5 (C=O_{Ac}), 170.4 (C=O_{Ac}), 170.1 (C=O_{Ac}), 170.0 (C=O_{Ac}), 169.4 (C=O_{Ac}), 145.5 (C-17), 142.0 (C-4a/10a), 134.5 (C-3/6), 130.2 (C-20), 128.8 (C-21), 128.5 (C-1/8), 122.9 (C-16), 122.8 (C-8a/9a), 121.7 (C-2/7), 114.7 (C-4/5), 101.5 (C-29), 99.6 (C-23), 76.6 (C-26), 73.2 (C-25), 73.0 (C-27), 72.0 (C-24), 71.3 (C-31), 71.0 (C-33), 69.5 (C-30), 67.0 (C-32), 66.4 (C-19), 65.1 (C-22), 64.1 (C-18), 62.3 (C-28), 61.1 (C-34), 50.3 (C-11), 46.0 (C-15), 30.8 (C-12), 27.0 (C-14), 24.2 (C-13), 21.4-20.8 (OAc) ppm.

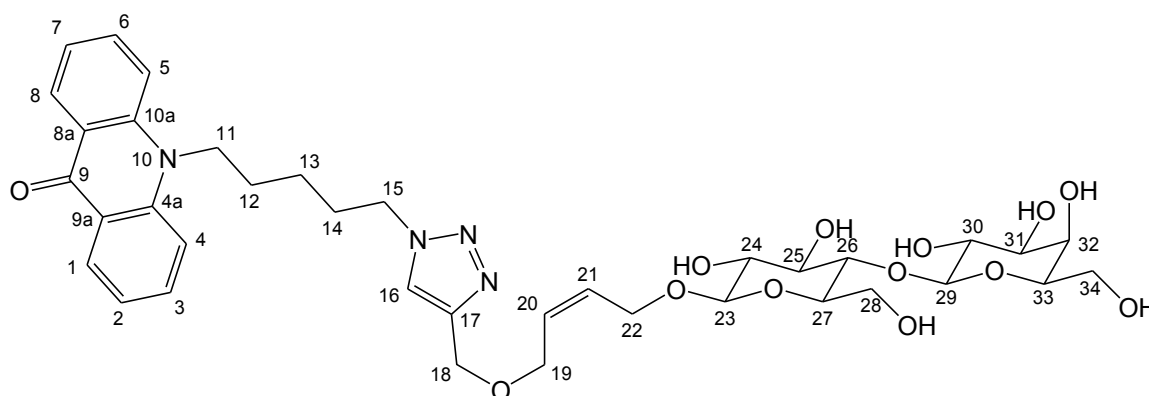
5.5.7 10-{5-[4-((4-(β -D-Lactosyloxy)-(Z)-2-buten-1-yloxy)-methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl]-1-pentyl}-acridin-9-(10H)-on (61)

177 mg (0.168 mmol) 10-{5-[4-((4-(Hepta-O-acetyl- δ -D-lactosyloxy)-(Z)-2-buten-1-yloxy)-methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl]-pentyl}-acridin-9-(10H)-on (**58**) werden in abs. Methanol gelöst und mit einer katalytischen Menge Natriummethanolat versetzt. Nach 2 h zeigt das DC vollständigen Umsatz. Die Reaktionslösung wird mit saurem Ionentauscher versetzt, der nach 15 min Rühren abfiltriert wird. Das Lsm. wird i. Vac. entfernt.

Ausbeute: 127 mg (0.168 mmol; quant.) **61**.

R_f = 0.06 (CH:EE = 1:4 v/v)

C₃₇H₄₈N₄O₁₃: 756.80 g/mol



¹H-NMR (500 MHz, d₄-MeOH): ζ = 8.46 (dd; J = 8.0 Hz, J = 1.7 Hz; 2H; H-1/8), 7.94 (s; 1H; H-16), 7.81 (ddd; J = 8.7 Hz, J = 7.0 Hz, J = 1.7 Hz; 2H; H-3/6), 7.69 (d; J = 8.7 Hz; 2H; H-4/5), 7.32 (dd; J = 8.0 Hz, J = 7.0 Hz; 2H; H-2/7), 5.76 (m; 2H; H-20, H-21), 4.59 (s; 2H; H-18), 4.47-4.25 (m; 6H), 4.16 (m; 2H; H-15), 3.91-3.46 (m; 12H), 3.38 (m; 1H; H-27), 3.26 (m; 1H; H-30), 2.04 (m; 2H; H-14), 1.94 (m; 2H; H-12), 1.56 (m; 2H; H-13) ppm.

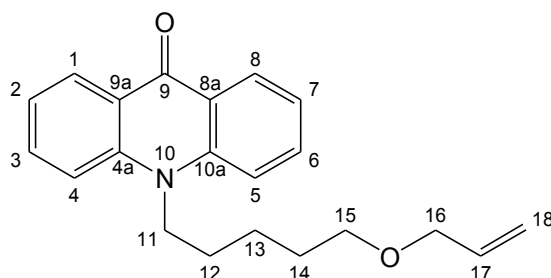
¹³C-NMR (125 MHz, d₄-MeOH): ζ = 179.69 (C-9), 145.76 (C-17), 142.99 (C-4a/10a), 135.63 (C-3/6), 130.26 (C-20), 130.17 (C-21), 128.22 (C-1/8), 124.95 (C-16), 122.95 (C-8a/9a), 122.58 (C-2/7), 116.44 (C-4/5), 104.95 (C-29), 102.92 (C-23), 80.74 (C-26), 76.89 (C-33), 76.31 (C-27), 76.28 (C-25), 74.44 (C-30), 74.46 (C-31), 72.38 (C-24), 70.10 (C-32), 66.82 (C-19), 65.49 (C-22), 63.94 (C-18), 62.37 (C-34), 61.93 (C-28), 51.03 (C-11), 46.70 (C-15), 30.76 (C-12), 27.60 (C-14), 24.39 (C-13) ppm.

5.5.8 10-(5-Allyloxy-1-pentyl)-acridin-9(10*H*)-on (63)

250 mg (6.25 mmol) NaH (60 %ig in Mineralöl) werden in trockenem THF suspendiert und mit 871 mg (15 mmol) Allylalkohol versetzt. Anschließend werden 1.03 g (3.00 mmol) 10-(5-Brom-1-pentyl)-acridin-9(10*H*)-on (**45**) hinzugefügt und die Reaktionsmischung 15 h unter Rückfluss erhitzt. Die Reaktionsmischung wird mit Wasser versetzt, mehrmals mit MTBE extrahiert, die vereinigten org. Phasen mit ges. NaCl-Lsg. gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Das Lsm. wird i. Vac. entfernt. Das verbleibende gelbe Öl wird säulenchromatographisch (Kieselgel, CH:EE = 4:1, mit 1 % NEt₃) getrennt.

Ausbeute: 560 mg (1.74 mmol; 58 %) **63**.

C₂₁H₂₃NO₂: 321.41 g/mol



¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): ζ = 8.57 (dd; J = 8.0 Hz, J = 1.7 Hz; 2H; H-1/8), 7.69 (ddd; J = 8.7 Hz, J = 7.0 Hz, J = 1.8 Hz; 2H; H-3/6), 7.46 (d; J = 8.7 Hz; 2H; H-4/5), 7.23 (dd; J = 8.0 Hz, J = 7.0 Hz; 2H; H-2/7), 5.92 (ddt; J = 17.2 Hz, J = 10.4 Hz, J = 5.5 Hz; 1H; H-17), 5.28 (ddt; J = 17.2 Hz, J = 1.6 Hz, J = 1.6 Hz; 1H; H-17_E), 5.19 (ddt; J = 10.4 Hz, J = 1.4 Hz, J = 1.4 Hz; 1H; H-17_Z), 4.31 (m; 2H; H-11), 3.98 (ddd; J = 5.5 Hz, J = 1.6 Hz, J = 1.4 Hz; 1H; H-17_E), 3.49 (t; J = 6.0 Hz; 2H; H-15), 1.94 (m; 2H), 1.74 (m; 2H), 1.64 (m; 2H) ppm.

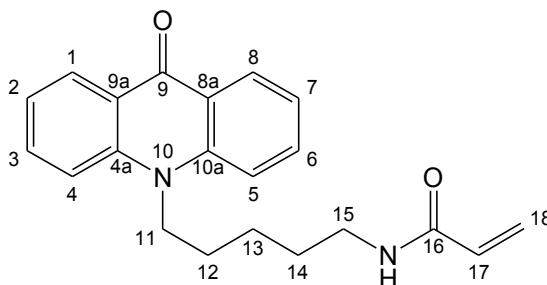
¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): ζ = 177.87 (C-9), 141.67 (C-4a/10a), 134.80 (C-17), 133.79 (C-3/6), 127.90 (C-1/8), 122.41 (C-8a/9a), 121.10 (C-2/7), 116.91 (C-18), 114.47 (C-4/5), 71.91 (C-16), 69.86 (C-15), 46.05 (C-11), 29.40 (C-14), 26.89 (C-12), 23.71 (C-13) ppm.

5.5.9 10-(*N*-Acryloyl-5-amino-1-pentyl)-acridin-9(10*H*)-on (64)

1.722 g (6.14 mmol) 10-(5-Amino-1-pentyl)-acridin-9(10*H*)-on (**47**) werden in trockenem THF gelöst und mit 1.86 g (18.42 mmol) NEt₃ versetzt. Bei -78 °C werden 667 mg (7.37 mmol) Acryloylchlorid zugetropft und 2 h gerührt. Anschließend wird Methanol zugegeben, um überschüssiges Acryloylchlorid zu zerstören. Die Reaktionsmischung wird mit MTBE versetzt, mit Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und das Lsm. i. Vac. entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (Kieselgel, CHCl₃:MeOH = 20:1, mit 1 % NEt₃) gereinigt.

Ausbeute: 1.483 g (4.43 mmol; 73 %) **64** als dunkelgelber Feststoff.

C₂₁H₂₂N₂O₂: 334.41 g/mol



¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): ζ = 8.43 (dd; J = 8.0 Hz, J = 1.7 Hz; 2H; H-1/8), 7.62 (ddd; J = 8.7 Hz, J = 7.0 Hz, J = 1.7 Hz; 2H; H-3/6), 7.36 (d; J = 8.7 Hz; 2H; H-4/5), 7.19 (dd; J = 8.0 Hz, J = 7.0 Hz; 2H; H-2/7), 6.26 (dd; J = 17.0 Hz, J = 1.8 Hz; 1H; H-18_E), 6.16 (dd; J = 17 Hz, J = 10.0 Hz; 1H; H-17), 5.58 (dd; J = 10.0 Hz, J = 1.8 Hz; 1H; H-18_Z),

4.15 (m; 2H; H-11), 3.29 (t; $J = 6.9$ Hz; 2H; H-15), 3.01 (bs; NH), 1.78 (m; 2H), 1.59 (m; 2H), 1.48 (m; 2H) ppm.

^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3): $\zeta = 178.12$ (C-9), 166.13 (C-16), 141.44 (C-4a/10a), 134.04 (C-3/6), 130.74 (C-17), 127.46 (C-1/8), 126.09 (C-18), 121.92 (C-8a/9a), 121.23 (C-2/7), 114.53 (C-4/5), 45.81 (C-11), 39.02 (C-15), 29.02 (C-14), 26.59 (C-12), 23.94 (C-13) ppm.

5.5.10 10-{5-[4-(Hepta-*O*-acetyl- β -D-lactosyloxy)-(E)-2-buten-1-yloxy]-1-pentyl}-acridin-9(10*H*)-on (65)

161 mg (0.50 mmol) 10-(5-Allyloxy-1-pentyl)-acridin-9(10*H*)-on (**63**) und 68 mg (0.10 mmol) Allyl-hepta-*O*-acetyl- δ -D-lactosid (**62**) werden in 5 mL trockenem Dichlormethan gelöst und mit 21 mg (0.025 mmol) Grubbs-II-Katalysator versetzt. Nach 16 h Rühren bei RT zeigt das DC noch keinen vollständigen Umsatz. Es werden nochmals 21 mg (0.025 mmol) Grubbs-II-Katalysator zugegeben und weitere 24 h bei RT gerührt. Danach wird die Reaktionsmischung säulenchromatographisch (Kieselgel, CHCl_3 :MeOH = 20:1, mit 1 % NEt_3) getrennt. Es können 100 mg (0.31 mmol; 62 %) Edukt **63** sowie 38 mg (0.06 mmol; 13 %) 1,4-Bis-[5-(acridin-9(10*H*)-on-10-yl)-1-pentyl]-2-buten isoliert werden. Das gewünschte Produkt **65** wird nicht erhalten.

5.5.11 10-[6-(Hepta-*O*-acetyl- β -D-lactosyloxy)-(E)-4-hexen-1-yl]-acridin-9(10*H*)-on (67)

26 mg (0.10 mmol) 10-(5-Penten-1-yl)-acridin-9(10*H*)-on (**48**) und 68 mg (0.10 mmol) Allyl-hepta-*O*-acetyl- δ -D-lactosid (**62**) werden in 2 mL trockenem Dichlormethan gelöst und mit 8 mg (0.01 mmol) Grubbs-II-Katalysator versetzt. Nach 16 h Erhitzen unter Rückfluss zeigt das DC keinerlei Umsatz.

5.5.12 10-{*N*-[4-(Hepta-*O*-acetyl- β -D-lactosyloxy)-(E)-1-oxo-2-buten-1-yl]-5-amino-1-pentyl}-acridin-9(10*H*)-on (69)

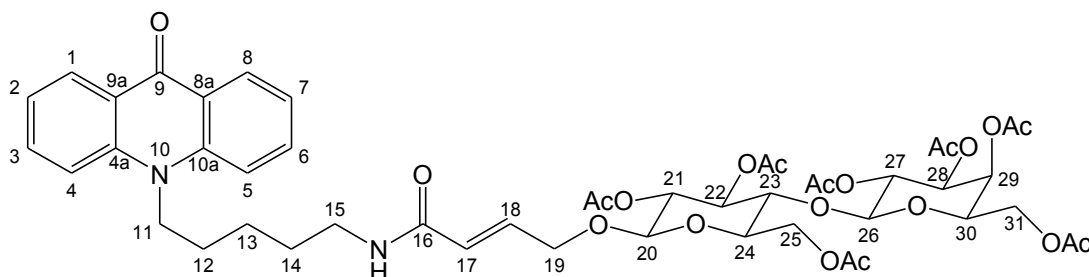
167 mg (0.50 mmol) 10-(*N*-Acryloyl-5-amino-1-pentyl)-acridin-9(10*H*)-on (**64**) und 338 mg (0.50 mmol) Allyl-hepta-*O*-acetyl- δ -D-lactosid (**62**) werden in 5 mL trockenem Dichlormethan gelöst und mit 21 mg (0.025 mmol) Grubbs-II-Katalysator versetzt. Nach 1.5 h Rühren bei RT zeigt das DC vollständigen Umsatz, woraufhin die Lösung mit 98 mg (1.25 mmol) DMSO versetzt wird,

um den Katalysator zu zerstören. Nach weiteren 24 h Rühren bei RT wird die Reaktionsmischung säulenchromatographisch (Kieselgel, CHCl_3 :MeOH = 20:1, mit 1 % NEt_3) getrennt.

Ausbeute: 216 mg (0.22 mmol; 44 %) **69**.

$R_f = 0.24$ (CHCl_3 :MeOH = 20:1 v/v)

$\text{C}_{48}\text{H}_{58}\text{N}_2\text{O}_{20}$: 982.98 g/mol



$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\zeta = 8.52$ (dd; $J = 8.0$ Hz, $J = 1.7$ Hz; 2H; H-1/8), 7.69 (ddd; $J = 8.7$ Hz, $J = 7.0$ Hz, $J = 1.7$ Hz; 2H; H-3/6), 7.45 (d; $J = 8.7$ Hz; 2H; H-4/5), 7.26 (dd; $J = 8.0$ Hz, $J = 7.0$ Hz; 2H; H-2/7), 6.76 (dt; $J = 15.3$ Hz, $J = 3.9$ Hz; 1H; H-18), 6.00 (dt; $J = 15.3$ Hz, $J = 2.0$ Hz; 1H; H-17), 5.32 (dd; $J = 3.5$ Hz, $J = 0.9$ Hz; 1H; H-29), 5.18 (dd; $J = 9.5$ Hz, $J = 9.5$ Hz; 1H; H-22), 5.06 (dd; $J = 10.4$ Hz, $J = 7.9$ Hz; 1H; H-27), 4.94 (dd; $J = 10.4$ Hz, $J = 3.5$ Hz; 1H; H-28), 4.91 (dd; $J = 9.5$ Hz, $J = 8.0$ Hz; 1H; H-21), 4.52-4.42 (m; 4H; H-20, H-25a, H-26, H-19a), 4.28 (m; 2H; H-11), 4.21 (ddd; $J = 16.2$ Hz, $J = 4.2$ Hz, $J = 2.0$ Hz; 1H; H-19b), 4.13-4.02 (m; 3H; H-25b, H-31), 3.86 (td; $J = 7.3$ Hz, $J = 0.9$ Hz; 1H; H-30), 3.78 (dd; $J = 9.6$ Hz, $J = 9.5$ Hz; 1H; H-23), 3.57 (m; 1H; H-24), 3.33 (m; 2H; H-15), 2.12 (s; 3H; Ac-H), 2.09 (s; 3H; Ac-H), 2.03 (s; 6H; Ac-H), 2.02 (s; 3H; Ac-H), 2.01 (s; 3H; Ac-H), 1.93 (s; 3H; Ac-H), 1.90 (m; 2H; H-14), 1.64 (m; 2H; H-12), 1.55 (m; 2H; H-13) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): $\zeta = 178.10$ (C-9), 170.48 (C=O_{Ac}), 170.36 (C=O_{Ac}), 170.14 (C=O_{Ac}), 170.06 (C=O_{Ac}), 169.7 (C=O_{Ac}), 169.08 (C=O_{Ac}), 165.67 (C-16), 141.63 (C-4a/10a), 138.03 (C-18), 134.01 (C-3/6), 127.81 (C-1/8), 123.62 (C-17), 122.24 (C-8a/9a), 121.27 (C-2/7), 114.52 (C-4/5), 100.89 (C-26), 100.35 (C-20), 75.89 (C-23), 72.74 (C-22), 72.43 (C-24), 71.68 (C-21), 70.87 (C-28), 70.64 (C-30), 69.09 (C-27), 68.49 (C-19), 66.56 (C-29), 61.58 (C-25), 60.69 (C-31), 45.90 (C-11/15), 45.87 (C-15/11), 29.29 (C-12), 26.76 (C-14), 24.09 (C-13), 20.76-20.36 (OAc) ppm.

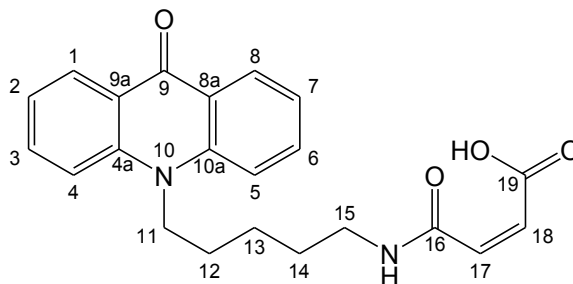
5.5.13 *N*-(Acridin-9(10*H*)-on-10-yl-1-pentyl)-maleinsäuremonoamid (79)

1.12 g (4.00 mmol) 10-(5-Amino-1-pentyl)-acridin-9(10*H*)-on (**47**) werden in wenig Chloroform gelöst und mit 394 mg (4.00 mmol) Maleinsäureanhydrid versetzt. Nach 2 h Rühren bei RT wird der Niederschlag abfiltriert und mit wenig Chloroform gewaschen. Bei höheren Ansprüchen an die Reinheit wird das Produkt säulenchromatographisch (Kieselgel, CHCl₃:MeOH = 10:1 v/v, mit 1 % Essigsäure) gereinigt.

Ausbeute: 1.26 g (3.33 mmol; 83 %) **79** als gelber Feststoff.

R_f = 0.21 (CHCl₃:MeOH = 10:1 v/v, mit 1 % Essigsäure)

C₂₂H₂₂N₂O₄: 280.36 g/mol



¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): ζ = 9.02 (1H; NH), 8.45 (dd; J = 8.0 Hz, J = 1.7 Hz; 2H; H-1/8), 7.68 (ddd; J = 8.7 Hz, J = 7.0 Hz, J = 1.7 Hz; 2H; H-3/6), 7.46 (d; J = 8.7 Hz; 2H; H-4/5), 7.22 (dd; J = 8.0 Hz, J = 7.0 Hz; 2H; H-2/7), 6.38 (d; J = 12.8 Hz; 1H; H-17), 6.20 (d; J = 12.8 Hz; 1H; H-18), 4.29 (m; 2H; H-11), 1.90 (m; 2H), 1.64 (m; 2H), 1.53 (m; 2H) ppm.

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): ζ = 177.46 (C-9), 165.98 (C-19), 165.20 (C-16), 141.33 (C-4a/10a), 134.70 (C-17), 133.73 (C-3/6), 131.67 (C-18), 127.36 (C-1/8), 121.94 (C-8a/9a), 120.93 (C-2/7), 114.33 (C-4/5), 45.48 (C-11), 39.26 (C-15), 28.19 (C-14), 26.27 (C-12), 23.59 (C-13) ppm.

5.6 Saccharide

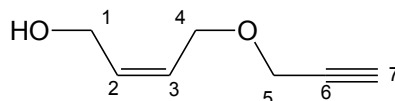
5.6.1 (Z)-4-(2-Propinyloxy)-2-buten-1-ol (52)

79.3 g (900 mmol) (Z)-2-Buten-1,4-diol werden unter Stickstoff in 80 mL THF gelöst und auf 0 °C abgekühlt. Zu der gelblich klaren Lösung werden 7.8 g (309 mmol) NaH (95 % w/w), suspendiert in 80 mL THF, zugegeben. Es bildet sich eine orangegelbe Suspension. Nach Abklingen der Wasserstoffentwicklung wird die Reaktionsmischung auf RT erwärmt und es werden 44.6 g (300 mmol) Propargylbromid (80 % w/w in Toluol) in 60 mL THF langsam zugegeben. Die orangebraune Suspension wird 17 h unter Rückfluss erhitzt, bis das DC vollständigen Umsatz zeigt. Die Suspension wird mit Wasser verdünnt, mehrmals mit Diethylether extrahiert, die org. Phase über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösemittel i. Vac. entfernt. Das braune ölige Rohprodukt wird säulenchromatographisch (Kieselgel, CH:EE = 1:1 v/v) gereinigt.

Ausbeute: 27.2 g (216 mmol; 72 % bezogen auf Propargylbromid) als hellgelbes Öl.

$R_f = 0.28$ (CH:EE = 1:1 v/v)

$C_7H_{10}O_2$: 126.15 g/mol



¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): ζ = 5.80 (m; 1H; H-2), 5.62 (m; 1H; H-3), 4.16 (d; J = 6.2 Hz; 2H; H-1), 4.10 (m; 4H; H-4, H-5), 2.75 (bs; 1H; OH), 2.45 (t; J = 2.2 Hz; 1H; H-7) ppm.

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃): ζ = 133.3 (C-2), 127.2 (C-3), 79.5 (C-6), 74.9 (C-7), 65.0 (C-1), 58.5 (C-5), 57.3 (C-4) ppm.

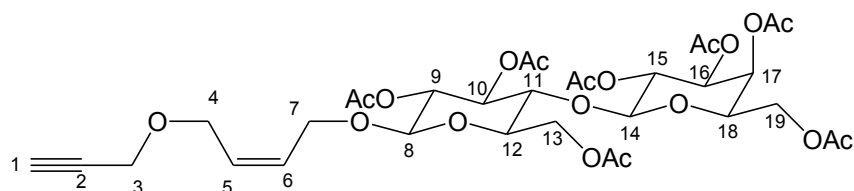
5.6.2 4-(2-Propinyloxy)-(Z)-2-buten-1-yl-hepta-O-acetyl- β -D-lactosid (53)

Unter Argonatmosphäre werden 2.50 g (3.58 mmol) Hepta-O-acetyl- γ -D-lactosylbromid (**50**) in 8 mL trockenem Dichlormethan gelöst und mit 1.08 g (4.28 mmol) Hg(CN)₂ sowie 0.77 g (2.14 mmol) HgBr₂ versetzt. Zu der Suspension werden 0.54 g (4.28 mmol) (Z)-4-(2-Propinyloxy)-2-buten-1-ol (**52**) gegeben. Die Reaktionsmischung wird 20 h bei RT gerührt. Anschließend wird die Suspension filtriert, das Filtrat mehrmals mit 10 %iger wässriger KBr-Lösung gewaschen und die

org. Phase über Na_2SO_4 getrocknet. Das Lsm. wird i. Vac. entfernt und der sirupartige Rückstand säulenchromatographisch (Kieselgel, CH:EE = 2:1) gereinigt.

Ausbeute: 1.15 g (1.54 mmol; 43 %) **53** als farbloser Schaum.

C₃₃H₄₄O₁₉: 744.69 g/mol



¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): ζ = 5.70 (m; 2H; H-5, H-6), 5.32 (dd; J = 3.5 Hz, J = 0.9 Hz; 1H; H-17), 5.17 (dd; J = 9.5 Hz, J = 9.5 Hz; 1H; H-10), 5.08 (dd; J = 10.4 Hz, J = 7.9 Hz; 1H; H-15), 4.94 (dd; J = 10.4 Hz, J = 3.5 Hz; 1H; H-16), 4.88 (dd; J = 9.5 Hz, J = 8.0 Hz; 1H; H-9), 4.50-4.46 (m; 3H; H-8, H-13a, H-14), 4.30 (m; 2H; H-4/7), 4.14-4.04 (m; 7H; H-3, H-4/7, H-13b, H-19), 3.85 (td; J = 7.3 Hz, J = 0.9 Hz; 1H; H-18), 3.79 (dd; J = 9.6 Hz, J = 9.5 Hz; 1H; H-11), 3.59 (m; 1H; H-12), 2.45 (t; J = 2.4 Hz; 1H; H-1), 2.13 (s; 3H; Ac-H), 2.11 (s; 3H; Ac-H), 2.04 (s; 6H; Ac-H), 2.02 (s; 3H; Ac-H), 2.02 (s; 3H; Ac-H), 1.94 (s; 3H; Ac-H) ppm.

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): ζ = 170.28 (C=O_{Ac}), 170.26 (C=O_{Ac}), 170.06 (C=O_{Ac}), 169.97 (C=O_{Ac}), 169.69 (C=O_{Ac}), 169.56 (C=O_{Ac}), 168.99 (C=O_{Ac}), 129.41 (C-5), 128.84 (C-6), 101.04 (C-14), 99.12 (C-8), 79.46 (C-2), 76.20 (C-11), 74.77 (C-1), 72.86 (C-10), 72.59 (C-12), 71.57 (C-9), 70.93 (C-16), 70.64 (C-18), 69.06 (C-15), 66.57 (C-17), 64.87 (C-4/7), 64.57 (C-4/7), 61.93 (C-13), 60.75 (C-19), 57.20 (C-3), 20.80-20.43 (OAc) ppm.

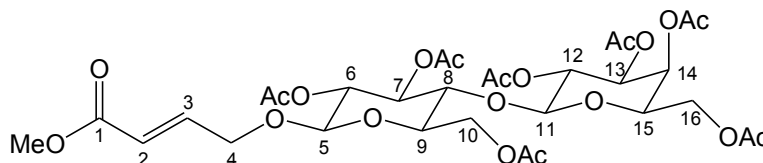
5.6.3 (*E*)-4-(Hepta-*O*-acetyl- β -D-1-lactosyl)-2-butensäuremethylester (**68**)

9 mg (0.10 mmol) Acrylsäuremethylester und 68 mg (0.10 mmol) Allyl-hepta-*O*-acetyl- δ -D-lactosid (**62**) werden in 2 mL trockenem Dichlormethan gelöst und mit 8 mg (0.009 mmol) Grubbs-II-Katalysator versetzt. Nach 2 h Erhitzen unter Rückfluss zeigt das DC vollständigen Umsatz, woraufhin die Lösung mit 35 mg (0.45 mmol) DMSO versetzt wird, um den Katalysator zu zerstören. Nach weiteren 12 h Rühren bei RT wird die Reaktionsmischung säulenchromatographisch (Kieselgel, CH:EE = 1:1 v/v) getrennt.

Ausbeute: 50 mg (68 μ mol; 68 %) **68**.

R_f = 0.37 (CH:EE = 1:2 v/v)

$C_{31}H_{42}O_{20}$: 734.65 g/mol



1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): ζ = 6.86 (dt; J = 15.8 Hz, J = 4.2 Hz; 1H; H-3), 6.00 (dt; J = 15.8 Hz, J = 2.0 Hz; 1H; H-2), 5.32 (dd; J = 3.5 Hz, J = 0.9 Hz; 1H; H-14), 5.17 (dd; J = 9.5 Hz, J = 9.5 Hz; 1H; H-7), 5.07 (dd; J = 10.4 Hz, J = 7.9 Hz; 1H; H-12), 4.94 (dd; J = 10.4 Hz, J = 3.5 Hz; 1H; H-13), 4.91 (dd; J = 9.5 Hz, J = 8.0 Hz; 1H; H-6), 4.50-4.42 (m; 4H; H-5, H-10a, H-11; H-4a), 4.21 (ddd; J = 16.2 Hz, J = 4.2 Hz, J = 2.0 Hz; 1H; H-4b), 4.12-4.02 (m; 3H; H-10b, H-16), 3.86 (td; J = 7.3 Hz, J = 0.9 Hz; 1H; H-15), 3.78 (dd; J = 9.6 Hz, J = 9.5 Hz; 1H; H-8), 3.57 (m; 1H; H-9), 2.12 (s; 3H; Ac-H), 2.09 (s; 3H; Ac-H), 2.04 (s; 6H; Ac-H), 2.03 (s; 3H; Ac-H), 2.02 (s; 3H; Ac-H), 2.01 (s; 3H; Ac-H), 1.93 (s; 3H; Ac-H) ppm

^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$): ζ = 170.24 ($C=O_{Ac}$), 170.20 ($C=O_{Ac}$), 170.04 ($C=O_{Ac}$), 169.95 ($C=O_{Ac}$), 169.65 ($C=O_{Ac}$), 169.51 ($C=O_{Ac}$), 168.97 ($C=O_{Ac}$), 166.34 (C-1), 142.80 (C-3), 121.22 (C-2), 101.00 (C-11), 99.77 (C-5), 76.08 (C-8), 72.69 (C-7), 72.66 (C-9), 71.50 (C-6), 70.90 (C-13), 70.64 (C-15), 69.06 (C-12), 67.44 (C-4), 66.56 (C-14), 61.58 (C-10), 60.74 (C-16), 51.57 (Me), 20.94-20.40 (OAc) ppm.

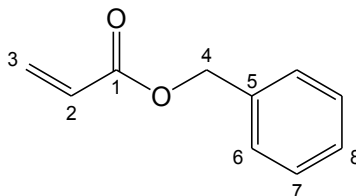
5.7 Tandem-Reaktionen

5.7.1 Acrylsäurebenzylester (70)

10.8 g (100 mmol) Benzylalkohol und 15.2 g (150 mmol) NEt_3 werden in 55 mL Chloroform gelöst. Unter Eiskühlung werden 10.9 g (120 mmol) Acrolylchlorid langsam zugetropft. Die Reaktionslösung wird 24 h bei RT gerührt, anschließend mit 80 mL H_2O versetzt, mehrmals mit MTBE extrahiert und die vereinigten org. Phasen über $MgSO_4$ getrocknet. Das Lösungsmittel wird i. Vac. entfernt.

Ausbeute: 15.7 g (97 mmol; 97 %) **70** als gelbes Öl.

C₁₀H₁₀O₂: 162.19 g/mol



¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): ζ = 7.40-7.36 (m; 5H; H-6 bis H-8), 6.46 (dd; J = 17.3 Hz, J = 1.5 Hz; 1H; H-3_E), 6.18 (dd; J = 17.3 Hz, J = 10.3 Hz; 1H; H-2), 5.86 (dd; J = 10.4 Hz, J = 1.5 Hz; 1H; H-3_Z), 5.22 (s; 1H; H-4) ppm.

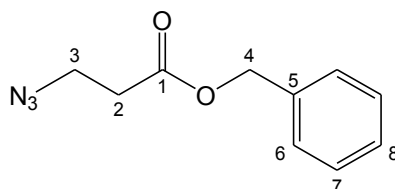
¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃): ζ = 166.03 (C-1), 135.86 (C-5), 131.13 (C-3), 128.31 (CH), 128.28 (CH), 128.25 (CH), 66.34 (C-4) ppm.

5.7.2 3-Azidopropionsäurebenzylester (**72**)

Zu einer Lösung aus 1.62 g (10 mmol) Acrylsäurebenzylester in 5 mL Eisessig wird eine Lösung aus 975 mg (15 mmol) Natriumazid in 5 mL H₂O gegeben. Die Reaktionsmischung wird drei Tage bei RT gerührt, mit 30 mL H₂O versetzt, mehrmals mit MTBE extrahiert und die vereinigten org. Phasen über MgSO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wird i. Vac. entfernt. Das Gemisch wird säulenchromatographisch (CH:EE 5:1, CH:EE 2:1) aufgereinigt.

Ausbeute: 1.50 g (7.31 mmol, 73 %) **72** als farbloser Feststoff (leicht verunreinigt).

C₁₀H₁₁N₃O₂: 205.21 g/mol



¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): ζ = 7.39-7.29 (m; 5H; H-6, H-7, H-8), 5.17 (s; 2H; H-4), 3.59 (t; J = 6.5 Hz; 2H; H-3), 2.63 (t; J = 6.5 Hz; 2H; H-2) ppm.

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃): ζ = 177.12 (C-1), 135.39 (C-5), 128.56 (CH), 128.47 (CH), 128.29 (CH), 65.13 (C-4), 46.65 (C-3), 33.91 (C-2) ppm.

5.7.3 3-Azidocyclohexanon (**73**)

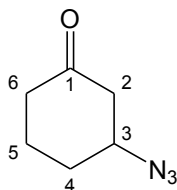
Mit NaN_3

338 mg (5.20 mmol) Natriumazid werden in 5 mL 2-Propanol/ H_2O 1:1 (v/v) gelöst und mit 30 μL NEt_3 sowie 298 μL (5.20 mmol) Essigsäure versetzt. Nun werden tropfenweise 100 mg (1.04 mmol) 2-Cyclohexen-1-on (**71**) hinzugegeben (Reihenfolge der Zugabe beachten). Das Reaktionsgemisch wird 24 h bei RT gerührt. Anschließend wird mit 30 mL H_2O verdünnt und mit MTBE extrahiert. Die org. Phase wird mehrmals mit H_2O (um die Essigsäure zu entfernen) und dann mit ges. NaCl-Lsg. gewaschen. Nach Trocknen über MgSO_4 wird das Lsm. i. Vac. entfernt.

Ausbeute: 135 mg **73** (im Gemisch mit 2-Cyclohexen-1-on, etwa 5:1)

$R_f = 0.8$ (EE)

$\text{C}_6\text{H}_9\text{N}_4\text{O}$: 139.16 g/mol



^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3): $\zeta = 3.85$ (m; 1H; H-3), 2.58 (m; 1H), 2.40-2.52 (m; 3H), 2.05-1.97 (m; 2H), 1.81-1.64 (m; 2H) ppm.

^{13}C -NMR (75 MHz, CDCl_3): $\zeta = 207.56$ (C-1), 59.45 (C-3), 46.50 (C-2), 40.58 (C-6), 29.71 (C-4), 21.31 (C-5) ppm.

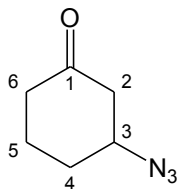
Mit TMS-N_3

Eine Lösung von 576 mg (5.00 mmol) Trimethylsilylazid in wasserfreiem CH_2Cl_2 wird mit 300 mg (5.00 mmol) Essigsäure versetzt und 20 min bei RT gerührt. Anschließend werden 96 mg (1.00 mmol) 2-Cyclohexen-1-on (**71**) sowie 20 mg (0.20 mmol) NEt_3 hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wird 18 h bei RT gerührt. Anschließend wird mit 30 mL H_2O verdünnt und mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die org. Phase wird mehrmals mit H_2O und dann mit ges. NaCl-Lsg. gewaschen. Nach Trocknen über MgSO_4 wird das Lsm. i. Vac. entfernt.

Ausbeute: 134 mg **73** (im Gemisch mit 2-Cyclohexen-1-on, etwa 7:1)

$R_f = 0.80$ (EE)

$C_6H_9N_4O$: 139.16 g/mol



1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$): $\zeta = 3.85$ (m; 1H; H-3), 2.58 (m; 1H), 2.40-2.52 (m; 3H), 2.05-1.97 (m; 2H), 1.81-1.64 (m; 2H) ppm.

^{13}C -NMR (75 MHz, $CDCl_3$): $\zeta = 207.56$ (C-1), 59.45 (C-3), 46.50 (C-2), 40.58 (C-6), 29.71 (C-4), 21.31 (C-5) ppm.

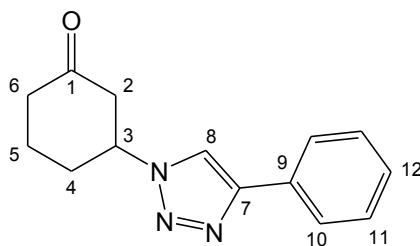
5.7.4 3-(4-Phenyl-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)-cyclohexan-1-on (74)

Aus 3-Azidocyclohexanon (73)

139 mg (1.00 mmol) 3-Azidocyclohexanon (**73**) und 117 mg (1.15 mmol) Phenylacetylen werden in 2 mL tert.-BuOH gelöst. Nun werden 2 mL H_2O , 100 μL 0.4 M Natrium-Ascorbat-Lösung und 100 μL 0.2 M $CuSO_4$ -Lösung hinzugegeben und die Reaktionsmischung 24 h bei RT gerührt. Dann wird sie mit 10 mL H_2O versetzt und mit Chloroform extrahiert. Die vereinigten org. Phasen werden über $MgSO_4$ getrocknet und das Lsm. i. Vac. entfernt. Zur Entfernung des Cu-Katalysators wird fraktionierend über Kieselgel filtriert (CH:EE = 4:1).

Ausbeute: 142 mg (0.589 mmol; 59 %) **74**.

$C_{14}H_{15}N_3O$: 241.29 g/mol



¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): ζ = 7.81(s; 1H; H-8), 7.77-7.75 (m; 2H; H-10), 7.37-7.34 (m; 2H; H-34), 7.29 (tt; J = 7.4 Hz, J = 1.5 Hz; 1H; H-12), 4.87 (m; 1H; H-3), 3.07-2.93 (m; 2H), 2.54-2.27 (m; 4H), 2.15-2.05 (m; 1H), 1.88-1.73 (m; 1H) ppm.

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃): ζ = 206.41 (C-1), 147.37 (C-7), 130.29 (C-9), 128.73 (C-11), 128.14 (C-12), 125.53 (C-10), 118.21 (C-8), 58.72 (C-3), 47.13 (C-2), 40.35 (C-6), 31.42 (C-4), 21.50 (C-5) ppm.

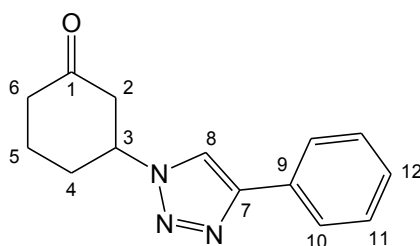
Aus 2-Cyclohexen-1-on

338 mg (5.20 mmol) Natriumazid werden in 5 mL *tert.*-Butanol/H₂O 1:1 (v/v) gelöst und mit 30 μ L NEt₃ sowie 298 μ L (5.20 mmol) Essigsäure versetzt. Nun werden unter Rühren tropfenweise 100 mg (1.04 mmol) 2-Cyclohexen-1-on (**71**) hinzugegeben (Reihenfolge der Zugabe beachten). Die Reaktionsmischung wird mit 117 mg (1.15 mmol) Phenylacetylen, 206 mg (1.04 mmol) Natrium-Ascorbat sowie 260 mg (1.04 mmol) CuSO₄, gelöst in wenig Wasser, versetzt und 24 h bei RT gerührt. Anschließend wird mit 30 mL H₂O verdünnt und mit Chloroform extrahiert. Die org. Phase wird mehrmals mit H₂O gewaschen. Nach Trocknen über MgSO₄ wird das Lsm. i. Vac. entfernt. Zur Entfernung des Cu-Katalysators wird über Kieselgel filtriert (EE).

Ausbeute: 116 mg **74** (im Gemisch mit **71** und **73**).

R_f = 0.53 (EE)

C₁₄H₁₅N₃O: 241.29 g/mol



¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): ζ = 7.81(s; 1H; H-8), 7.77-7.75 (m; 2H; H-10), 7.35 (tt; J = 7.7 Hz, J = 1.3 Hz; 2H; H-11), 7.27 (tt; J = 7.4 Hz, J = 1.3 Hz; 1H; H-12), 4.86-4.80 (m; 1H; H-3), 3.00-2.95 (m; 1H), 2.92-2.88 (m; 1H), 2.49-2.22 (m; 4H), 2.09-2.00 (m; 1H), 1.84-1.69 (m; 1H) ppm.

^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3): ζ = 206.34 (C-1), 147.35 (C-7), 130.23 (C-9), 128.65 (C-11), 128.04 (C-12), 125.48 (C-10), 118.16 (C-8), 58.65 (C-3), 47.03 (C-2), 40.25 (C-6), 31.40 (C-4), 21.41 (C-5) ppm.

Literaturverzeichnis

- [1] L. Marschall, *Im Schatten der chemischen Synthese – Industrielle Biotechnologie in Deutschland (1900-1970)*, Campus Verlag, Frankfurt (Main), **2000**.
- [2] P. Beroza, M. J. Suto „Designing chiral libraries for drug discovery“ *Drug Discov. Today* **2000**, 5, 364-372.
- [3] F. Balkenhohl, C. von dem Bussche-Hünnefeld, A. Lansky, C. Zechel „Combinatorial synthesis of small organic molecules“ *Angew. Chem. Int. Ed.* **1996**, 35, 2289-2337.
- [4] C. C. Tzschucke, C. Markert, W. Bannwarth, S. Roller, A. Hebel, R. Haag „Modern Separation Techniques for the Efficient Workup in Organic Synthesis“ *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 3964-4000.
- [5] D. P. Curran „Combinatorial Organic Synthesis and Phase Separation: Back to the Future“ *Chemtracts - Org. Chem.* **1996**, 9, 75-87.
- [6] F. Balkenhohl, C. von dem Bussche-Hünnefeld, A. Lansky, C. Zechel „Combinatorial synthesis of small organic molecules.“ *Angew. Chem. Int. Ed.* **1996**, 35, 2289-2337.
- [7] S. Cheng, D. D. Comer, J. P. Williams, P. L. Myers, D. L. Boger „Novel Solution Phase Strategy for the Synthesis of Chemical Libraries Containing Small Organic Molecules“ *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 2567-2573.
- [8] L. A. Thompson, J. A. Ellman „Synthesis and Applications of Small Molecule Libraries“ *Chem. Rev.* **1996**, 96, 555-600.
- [9] D. J. Gravert, K. D. Janda „Organic Synthesis on Soluble Polymer Supports: Liquid-Phase Methodologies“ *Chem. Rev.* **1997**, 97, 489-509.
- [10] A. Furka, F. Sebestyen, M. Asgedom, G. Dibo „General Method for Rapid Synthesis of Multicomponent Peptide Mixtures“ *Int. J. Pept. Prot. Res.* **1991**, 37, 487-493.
- [11] K. S. Lam, M. Lebl, V. Krchnak „The ‚one-bead-one-compound‘ combinatorial library method“ *Chem. Rev.* **1997**, 97, 411-448.
- [12] A. Kassajian, V. Schellenberger, C. W. Turck „Screening of Synthetic Peptide Libraries with Radiolabeled Acceptor Molecules“ *Pept. Res.* **1993**, 6, 129-133.
- [13] X. Y. Xiao, R. S. Li, H. Zhuang, B. Ewing, K. Karunaratne, J. Lillig, R. Brown, K. C. Nicolaou „Solid-phase combinatorial synthesis using MicroKan reactors, Rf tagging, and directed sorting“ *Biotechnol. Bioeng.* **2000**, 71, 44-50.
- [14] E. Erb, K. D. Janda, S. Brenner „Recursive Deconvolution of Combinatorial Chemical Libraries“ *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1994**, 91, 11422-11426.
- [15] S. M. Freier, D. A. M. Konings, J. R. Wyatt, D. J. Ecker „Deconvolution of Combinatorial Libraries for Drug Discovery – a Model System“ *J. Med. Chem.* **1995**, 38, 344-352.
- [16] C. Barnes, S. Balasubramanian „Recent developments in the encoding and deconvolution of combinatorial libraries“ *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2000**, 4, 346-350.
- [17] R. B. Merrifield „Solid Phase Peptide Synthesis, I. The Synthesis of a Tetrapeptide“ *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, 85, 2149-2154.
- [18] R. B. Merrifield „Solid-Phase Synthesis (Nobel Lecture)“ *Angew. Chem. Int. Ed.* **1985**, 24, 799-810.

- [19] H. M. I. Osborn, T. H. Khan „Recent development in polymer supported synthesis of oligosaccharides and glycopeptides“ *Tetrahedron* **1999**, *55*, 1807-1850.
- [20] I. W. James „Linkers for Solid Phase Organic Synthesis“ *Tetrahedron* **1999**, *55*, 4855-4946.
- [21] P. Blaney, R. Grigg, V. Sridharan „Traceless Solid-Phase Organic Synthesis“ *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 2607-2624.
- [22] F. Z. Dörwald, *Organic Synthesis on Solid Phase. Supports, Linkers, Reactions*, Wiley-VCH, Weinheim, **2000**.
- [23] P. Hodge, D.C. Sherington, *Synthesis and Separations using Functional Polymers*, John Wiley and Sons Ltd., New York, **1988**, 1-42.
- [24] J. Capillon, A. Ricard, R. Audebert, C. Quivoron „Importance of the Texture of the Resin in Crown Ether Supported Catalysis“ *Polym. Bull.* **1985**, *13*, 185-192.
- [25] N. K. Terret, *Combinatorial Chemistry*, Oxford University Press, Oxford, **1998**.
- [26] S. H. deWitt, A. W. Czarnik „Automated Synthesis and Combinatorial Chemistry“ *Curr. Opin. Biotechnol.* **1995**, *6*, 640-645.
- [27] S. L. Regen „Motion of Molecules within Solvent Channels of Polystyrene Matrices“ *Macromolecules* **1975**, *8*, 689-690.
- [28] P. Hodge, D.C. Sherington, *Synthesis and Separations using Functional Polymers*, John Wiley and Sons Ltd., New York, **1988**, 43-122.
- [29] U. Grether, H. Waldmann „An Enzyme-Labile Safety Catch Linker for Synthesis on a Soluble Polymeric Support“ *Chem. Eur. J.* **2000**, *5*, 959-971.
- [30] M. A. Gallop, W. L. Fitch „New methods for analyzing compounds on polymeric supports“ *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1997**, *1*, 94-100.
- [31] H. Bandel, W. Haap, G. Jung, „FT-infrared spectroscopy and IR-microscopy on-bead analysis of solid-phase synthesis.“, *Combinatorial Chemistry*, Wiley-VCH, Weinheim, **1999**, 479-498.
- [32] G. Lippens, R. Warrass, J.-M. Wieruszeski, P. Rousselot-Pailley, G. Chessari „High resolution magic angle spinning NMR in combinatorial chemistry.“ *Comb. Chem. High Throughput Screening* **2001**, *4*, 333-351.
- [33] B. Hinzen, M. G. Hahn „Polymer-supported reagents: preparation and use in parallel organic synthesis“ *Methods Princ. Med. Chem.* **2006**, *26*, 457-512.
- [34] M. Benaglia, A. Puglisi, F. Cozzi „Polymer-Supported Organic Catalysts“ *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 3401-3429.
- [35] A. Fauvel, H. Deleuze, Y. Landais „New polymer-supported organosilicon reagents“ *Eur. J. Org. Chem* **2005**, 3900-3910.
- [36] S. Bhattacharyya „New developments in polymer-supported reagents, scavengers and catalysts for organic synthesis“ *Curr. Opin. Drug Discovery Dev.* **2004**, *7*, 752-764.
- [37] L. A. Thompson „Recent applications of polymer-supported reagents and scavengers in combinatorial, parallel, or multistep synthesis“ *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2000**, *4*, 324-337.
- [38] S. V. Ley, I. R. Baxendale, R. N. Bream, P. S. Jackson, A. G. Leach, D. A. Longbottom, M. Nesi, J. S. Scott, R. I. Storer, S. J. Taylor „Multi-step organic synthesis using solid-supported reagents and scavengers: a new paradigm in chemical library generation“ *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2000**, 3815-4195.

- [39] A. Studer, S. Hadida, R. Ferritto, S.-Y. Kim, P. Jeger, P. Wipf, D. P. Curran „Fluorous Synthesis: A Fluorous-Phase Strategy for Improving Separation Efficiency in Organic Synthesis“ *Science* **1997**, 275, 823-826.
- [40] Fluorous Technologies Incorporated, *An Introduction to Fluorous Technology*, <http://www.fluorous.com>, **2006**.
- [41] M. Vogt, „The Application of Perfluorinated Polyethers for Immobilization of Homogeneous Catalysts“, *Dissertation* **1991**, RWTH Aachen.
- [42] I. T. Horvát, J. Rabái „Facile catalyst separation without water: fluorous biphasic hydroformylation of olefins“ *Science* **1994**, 266, 72-75.
- [43] A. Endres, G. Maas „Die fluorige Phase: Organische Chemie mit hochfluorierten Reagenzien und Lösungsmitteln“ *Chem. unserer Zeit* **2000**, 34, 382-393.
- [44] W. Zhang, D. P. Curran „Synthetic applications of fluorous solid-phase extraction (F-SPE)“ *Tetrahedron* **2006**, 52, 11837-11865.
- [45] W. Zhang, Y. Lu, T. Nagashima „Plate-to-Plate Fluorous Solid-Phase Extraction for Solution-Phase Parallel Synthesis“ *J. Comb. Chem.* **2005**, 7, 893-897.
- [46] Umweltbundesamt, *Perfluorierte Verbindungen: Falscher Alarm Oder Berechtigte Sorge?*, <http://www.umweltbundesamt.de/uba-info-presse/hintergrund/perfluorierte-verbindungen.pdf>, **2007**.
- [47] M. Knorst, „Neue Enzyme zur Synthese von sialinsäurehaltigen Oligosacchariden“, *Dissertation* **1999**, RWTH Aachen.
- [48] A. Porzelle, „Entwicklung einer reversiblen Festphasensynthese“, *Dissertation* **2003**, TU Darmstadt.
- [49] A. Porzelle, W.-D. Fessner „Reversible Substrate Anchoring: NC-SPOS as a Sustainable Approach to Solid-Supported Organic Synthesis“ *Angew. Chem.* **2004**, 117, 4802-4806.
- [50] D. Voet, J. G. Voet, *Biochemie*, VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, **1994**, 272-278.
- [51] D. Voet, J. G. Voet, *Biochemie*, VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, **1994**, 659.
- [52] W. Walter, *Lehrbuch der Organischen Chemie*, S. Hirzel Verlag, Stuttgart, **1991**, 689.
- [53] E. J. Corey, M. G. Howell, A. Boston, R. L. Young, R. A. Snee „Spectral and Stereochemical Studies with Deuterated Cyclohexanes“ *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, 78, 5036-5040.
- [54] T. Faller, K. Hutton, G. Okafo, A. Gribble, P. Camilleri, D. E. Games „A Novel Acridone Derivative for the Fluorescence Tagging and Mass Spectrometric Sequencing of Peptides“ *Chem. Commun.* **1997**, 1529-1530.
- [55] N. Bahr, E. Tierney, J.-L. Reymond „Highly Photoresistant Chemosensors Using Acridone as Fluorescent Label“ *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 1489-1492.
- [56] S. P. H. Mee, V. Lee, J. E. Baldwin, A. Cowley „Total synthesis of 5,5',6,6'-tetrahydroxy-3,3'-biindolyl, the proposed structure of a potent antioxidant found in beetroot (*Beta vulgaris*)“ *Tetrahedron* **2004**, 60, 3695-3712.
- [57] E. M. Bessell, J. H. Westwood „(R,S)-2,3-Epoxypropyl Ethers and Glycosides Of D-Glucopyranose“ *Carbohydr. Res.* **1972**, 25, 11-21.
- [58] S. Czernecki, C. Georgoulis, C. L. Stevens, K. Vijayakumaran „Pyridinium Dichromate Oxidation. Modifications Enhancing Its Synthetic Utility.“ *Tetrahedron Lett.* **1985**, 26, 1699-1702.

- [59] E. J. Corey, G. Schmidt „Useful Procedures for the Oxidation of Alcohols Involving Pyridinium Dichromate in Aprotic Media“ *Tetrahedron Lett.* **1979**, 20, 399-402.
- [60] R. P. Manley, K. W. Curry, N. C. Deno, M. D. Meyer „A One-Step Conversion of Cholest-4-en-3-one to 24-Hydroxycholesterol“ *J. Org. Chem.* **1980**, 45, 4385-4387.
- [61] R. V. Oppenauer, *Organic Syntheses, Coll. Vol. 3*, John Wiley & Sons, Inc., New York, **1955**, 207.
- [62] M. Schneider, J.-V. Weber, P. Faller „A New Triphasic Solid-Solid-Liquid Catalytic System for the Inexpensive and Selective Oxidation of Secondary Alcohols by Calcium Hypochlorite“ *J. Org. Chem.* **1982**, 47, 364-365.
- [63] S. Kanemoto, H. Tomioka, K. Oshima, H. Nozaki „Cerium or Ruthenium Catalyzed Oxidation of Alcohols to Carbonyl Compounds by Means of Sodium Bromate“ *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1986**, 59, 105-108.
- [64] H. Tomioka, K. Oshima, H. Nozaki „Cerium Catalyzed Selective Oxidation of Secondary Alcohols in the Presence of Primary Ones“ *Tetrahedron Lett.* **1982**, 23, 539-542.
- [65] H. G. O. Becker, R. Beckert, G. Domschke, E. Fanghänel, W. D. Habicher, P. Metz, D. Pavel, K. Schwetlick, *Organikum, 21. Auflage*, Wiley-VCH, Weinheim, **2001**.
- [66] W. Lehnert „Verbesserte Variante der Knoevenagel-Kondensation mit TiCl_4 /THF/Pyridin – I: Alkyliden- und Arylidenmalonester bei 0–25 °C“ *Tetrahedron Lett.* **1970**, 11, 4723-4724.
- [67] W. Lehnert „Knoevenagel-Kondensationen mit TiCl_4 /Base – III: Umsetzungen von Ketonen und γ -Halogenketonen mit Malonester“ *Tetrahedron* **1973**, 29, 635-638.
- [68] T. Naota, H. Taki, M. Mizuno, S.-I. Murahashi „Ruthenium-Catalyzed Aldol and Michael Reactions of Activated Nitriles“ *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, 111, 5954-5955.
- [69] J. Liao, Q. Wang „Ruthenium-Catalyzed Knoevenagel Condensation: A New Route toward Cyano-Substituted Poly(p-phenylenevinylene)s“ *Macromolecules* **2004**, 37, 7061-7063.
- [70] A. K. Bose, R. T. Dahill, jr. „Steroids. III. Transformations of Steroid Ketones Using Phosphonate Carbanions“ *J. Org. Chem.* **1965**, 30, 505-509.
- [71] W. M. Golebiewski, R. F. Keyes, M. Cushman „Exploration of the Effects of Linker Chain Modifications on Anti-HIV Activities in a Series of Cosalane Analogues“ *Bioorg. Med. Chem.* **1996**, 4, 1637-1648.
- [72] W. Walter, *Lehrbuch der Organischen Chemie*, S. Hirzel Verlag, Stuttgart, **1991**, 690-691.
- [73] D. Albert, M. Feigel „ δ -Loop, ι -Loop, and Helical Peptide Conformations in Cyclopeptides Containing a Steroidal Pseudo-Amino Acid“ *Helv. Chim. Acta* **1997**, 80, 2168-2181.
- [74] J. Tamminen, E. Kolehmainen, M. Haapala, J. Linnanto „Bile Acid-Piperazine Diamides: Novel Steroidal Templates in Syntheses of Supramolecular Hosts: Isomeric Pyridine-n-carboxy Containing Dimers and a Cholaphane“ *Synthesis* **2000**, 10, 1464-1468.
- [75] J. E. Gautrot, X. X. Zhu „Biodegradable polymers based on bile acids and potential biomedical applications“ *J. Biomater. Sci., Polym. Ed.* **2006**, 17, 1123-1139.
- [76] X. Chen, R. D. Mellon, L. Yang, H. Dong, J. J. Oppenheim, O. M. Z. Howard „Regulatory effects of deoxycholic acid, a component of the anti-inflammatory traditional Chinese medicine Niu Huang, on human leukocyte response to chemoattractants“ *Biochem. Pharmacol.* **2002**, 63, 533-541.
- [77] A. Fürstner „Multicomponent Catalysis for Reductive Bond Formations“ *Chem. Eur. J.* **1998**, 4, 567-570.

- [78] A. K. Bose, P. Mangiaracina „Tris-(3,6-dioxaheptyl)-amine: a superior complexing agent for dissolving metal reactions“ *Tetrahedron Lett.* **1987**, 28, 2503-2506.
- [79] J. H. Brewster „Reductions at Metal Surfaces. II. A Mechanism for the Clemmensen Reduction“ *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, 76, 6364-6368.
- [80] K. Matsumoto „The synthesis of δ -Allodesoxycholic acid from cholic acid“ *J. Biochem.* **1944**, 63, 183-189.
- [81] Huang-Minlon „A Simple Modification of the Wolff-Kishner Reduction“ *J. Am. Chem. Soc.* **1946**, 68, 2487-2488.
- [82] O. Hutchins, M. K. Hutchins „Reduction of C=X to CH₂ by Wolff-Kishner and other Hydrazone Methods“ *Comp. Org. Syn.* **1991**, 8, 327-343.
- [83] P. Bandyopadhyay, V. Janout, L. Zhang, S. L. Regen „Ion Conductors Derived from Cholic Acid and Spermine: Importance of Facial Hydrophilicity on Na⁺ Transport and Membrane Selectivity“ *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 7691-7696.
- [84] C. Li, A. S. Peters, E. L. Meredith, G. W. Allman, P. B. Savage „Design and Synthesis of Potent Sensitizers of Gram-Negative Bacteria Based on a Cholic Acid Scaffolding“ *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 2961-2962.
- [85] H. Gao, J. R. Dias „Synthesis of Cyclocholates and Derivatives“ *Synth. Commun.* **1997**, 27, 757-776.
- [86] U. M. Adler, „Zur Synthese eines Steriod-Ankers für Festphasenreaktionen“, *Diplomarbeit* **2000**, TU Darmstadt.
- [87] T. H. Applewhite, R. G. Binder, W. Gaffield „Optical Rotatory Dispersion and Absolute Configuration of Some Long-Chain Hydroxy Acids“ *J. Org. Chem.* **1967**, 32, 1173-1178.
- [88] J. Bauer, J. Rademann „Hydrophobically Assisted Switching Phase Synthesis: The Flexible Combination of Solid-Phase and Solution-Phase Reactions Employed for Oligosaccharide Preparation“ *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 7296-7297.
- [89] J. Bauer, K. Brandenburg, U. Zähringer, J. Rademann „Chemical Synthesis of a Glycolipid Library by a Solid-Phase Strategy Allows Elucidation of the Structural Specificity of Immunostimulation by Rhamnolipids“ *Chem. Eur. J.* **2006**, 12, 7116-7124.
- [90] H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless „Click-Chemie: diverse chemische Funktionalität mit einer Handvoll guter Reaktionen“ *Angew. Chem.* **2001**, 113, 2056-2075.
- [91] O. Mitsunobu „The Use of Diethyl Azodicarboxylate and Triphenylphosphine in Synthesis and Transformation of Natural Products“ *Synthesis* **1981**, 1-28.
- [92] I. Yamamoto, M. Sekine, T. Hata „One-step Synthesis of 5'-Azido-nucleosides“ *J. Chem. Soc. Perkin I* **1980**, 306-310.
- [93] N. G. Aher, V. S. Pore „Synthesis of Bile Acid Dimers Linked with 1,2,3-Triazole Ring at C-3, C-11 and C-24 Positions“ *Synlett* **2005**, 14, 2155-2158.
- [94] P. Hadwiger, P. Mayr, B. Nidetzky, A. E. Stütz, A. Tauss „Synthesis of 5,6-dimodified open-chain image-fructose derivatives and their properties as substrates of bacterial polyol dehydrogenase“ *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, 11, 607-620.
- [95] D. A. Dorsey, S. M. King, H. W. Moore „Synthesis of Vinylketenes. Thermolysis of 3-Azido-1,2-benzoquinones“ *J. Org. Chem.* **1986**, 51, 2814-2816.

- [96] K. Weber, U. Ohnmacht, P. Gmeiner „Enantiopure 4- and 5-Aminopiperidin-2-ones: Regiocontrolled Synthesis and Conformational Characterization as Bioactive δ -Turn Mimetics“ *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 7406-7416.
- [97] S. Nagarajan, B. Ganem „Chemistry of Naturally Occurring Polyamines. 11. Unsaturated Spermidine and Spermine Derivatives“ *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 5044-5046.
- [98] J. P. H. Verheydend, D. Wagner, J. G. Moffat „Synthesis of Some Pyrimidine 2'-Amino-2'-deoxynucleosides“ *J. Org. Chem.* **1971**, *36*, 250-254.
- [99] D. L. McMinn, M. M. Greenberg „Postsynthetic Conjugation of Protected Oligonucleotides Containing 3'-Alkylamines“ *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 3289-3294.
- [100] P. Grundmann, „Charakterisierung eines industriellen Biokatalysators: Zur Substratspezifität der Glutaryl-Acylase“, *Dissertation* **2007**, TU Darmstadt.
- [101] R. A. Dwek „Glycobiology: Toward Understanding the Function of Sugars“ *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 683-720.
- [102] T. Feizi „Cell-cell adhesion and membrane glycosylation“ *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1991**, *1*, 766-770.
- [103] A. Varki „Biological roles of oligosaccharide: all of the theories are correct“ *Glycobiology* **1993**, *3*, 97-130.
- [104] M. Fukuda „Carbohydrate-dependent cell adhesion“ *Bioorg. Med. Chem.* **1995**, *3*, 207-215.
- [105] M. Takahashi, T. Tsuda, Y. Ikeda, K. Honke, N. Taniguchi „Role of *N*-glycans in growth factor signaling“ *Glycoconjugate J.* **2003**, *20*, 207-212.
- [106] X.-L. Zhang. „Roles of glycans and glycopeptides in immune system and immune-related diseases“ *Curr. Med. Chem.* **2006**, *13*, 1141-1147.
- [107] P. K. Qasba „Involvement of sugars in protein-protein interactions“ *Carbohydr. Polym.* **2000**, *41*, 293-309.
- [108] S. Tsuboi, M. Fukuda „Roles of *O*-linked oligosaccharides in immune responses“ *BioEssays* **2001**, *23*, 46-53.
- [109] R. Kannagi, M. Izawa, T. Koike, K. Miyazaki, N. Kimura „Carbohydrate-mediated cell adhesion in cancer metastasis and angiogenesis“ *Cancer Sci.* **2004**, *95*, 377-384.
- [110] F. Wiseman, E. Cancellotti, J. Manson „Glycosylation and misfolding of PrP“ *Biochem. Soc. Trans.* **2005**, *33*, 1094-1095.
- [111] G. Opdenakker, P. M. Rudd, C. P. Ponting, R. A. Dwek „Concepts and principles of glycobiology“ *FASEB J.* **1993**, *7*, 1330-1337.
- [112] F. Wold, K. Moldave, *Methods in Enzymology, Vol. 105, Posttranslational Modifications Part A*, Academic Press, London-New York, **1984**.
- [113] F. Wold, K. Moldave, *Methods in Enzymology, Vol. 106, Posttranslational Modifications Part B*, Academic Press, London-New York, **1984**.
- [114] O. Srinivas, B. Muktha, S. Radhika, T. N. Guru Row, N. Jayaraman „Crystal structure of *N*-(benzyloxycarbonyl)aminoethyl-2,3,4,6-tetra-*O*-benzoyl- γ -D-mannopyranoside: stabilization of the crystal lattice by a tandem network of N-H \cdots O, C-H \cdots O, and C-H \cdots σ interactions“ *Carbohydr. Res.* **2007**, *339*, 1087-1092.

- [115] P. Wu, A. K. Feldman, A. K. Nugent, C. J. Hawker, A. Scheel, B. Voit, J. Pyun, J. M. J. Fréchet, K. B. Sharpless, V. V. Fokin „Efficiency and Fidelity in a Click-Chemistry Route to Triazole Dendrimers by the Copper(I)-Catalyzed Ligation of Azides and Alkynes“ *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 3928-3932.
- [116] V. V. Rostovtsev, L. G. Green, V. V. Fokin, K. B. Sharpless „A Stepwise Huisgen Cycloaddition Process: Copper(I)-Catalyzed Regioselective „Ligation“ of Azides and Terminal Alkynes“ *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596-2599.
- [117] G. Zemplen „Degradation of the reducing bioses. VII. Determination of the constitution of maltose“ *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1927**, *60*, 1555-1564.
- [118] R. H. Grubbs, *Handbook of Metathesis*, Wiley-VCH, Weinheim, **2003**.
- [119] S. J. Connon, S. Blechert, „Jüngste Entwicklungen bei der gekreuzten Olefinmetathese“ *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 1944-1968.
- [120] C. Pietraszuk, B. Marcinięca, H. Fischer „Cross-metathesis of vinylsilanes carrying electron-withdrawing substituents with olefins in the presence of the second-generation Grubbs catalyst“ *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 7121-7124.
- [121] A. N. Rai, A. Basu „Sphingolipid Synthesis via Olefin Cross Metathesis: Preparation of a Differentially Protected Building Block and Application to the Synthesis of D-erythro-Ceramide“ *Org. Lett.* **2004**, *6*, 2861-2863.
- [122] Y. M. Ahn, KyoungLang Yang, G. I. Georg „A Convenient Method for the Efficient Removal of Ruthenium Byproducts Generated during Olefin Metathesis Reactions“ *Org. Lett.* **2001**, *3*, 1411-1413.
- [123] L. A. Paquette, J. D. Schloss, I. Efremov, F. Fabris, F. Gallou, J. Méndez-Andino, and J. Yang „A Convenient Method for Removing All Highly-Colored Byproducts Generated during Olefin Metathesis Reactions“ *Org. Lett.* **2000**, *2*, 1259-1261.
- [124] H. D. Maynard, Robert H. Grubbs „Purification Technique for the Removal of Ruthenium from Olefin Metathesis Reaction Products“ *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 4137-4140.
- [125] C. W. Tornøe, C. Christensen, M. Meldal „Peptidotriazoles on Solid Phase: [1,2,3]-Triazoles by Regiospecific Copper(I)-Catalyzed 1,3-Dipolar Cycloadditions of Terminal Alkynes to Azides“ *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057-3064.
- [126] E. F. V. Scriven, K. Turnbull „Azides: Their Preparation and Synthetic Uses“ *Chem. Rev.* **1988**, *88*, 297-368.
- [127] A. K. Feldman, B. Colasson, V. V. Fokin „One-Pot Synthesis of 1,4-Disubstituted 1,2,3-Triazoles from In Situ Generated Azides“ *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3897-3899.
- [128] P. Appukkuttan, W. Dehaen, V. V. Fokin, E. Van der Eycken „A Microwave-Assisted Click Chemistry Synthesis of 1,4-Disubstituted 1,2,3-Triazoles via a Copper(I)-Catalyzed Three-Component Reaction“ *Org. Lett.* **2004**, *6*, 4223-4225.
- [129] S. Chittaboina, F. Xie, Q. Wang „One-pot synthesis of triazole-linked glycoconjugates“ *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 2331-2336.
- [130] J. Wengel, J. Lau, E. B. Pedersen, C. M. Nielsen „Synthesis of L-3'-Azido-3'-deoxythymidine and Its Stereoisomers“ *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 3591-3594.
- [131] J. H. Boyer „Addition of Hydrazoic Acid to Conjugated Systems“ *J. Am. Chem. Soc.* **1951**, *73*, 5248-5252.

- [132] J. R. Lakanen, J. K. Coward, A. E. Pegg „ γ -Methyl Polyamines: Metabolically Stable Spermidine and Spermine Mimics Capable of Supporting Growth in Cells Depleted of Polyamines“ *J. Med. Chem.* **1992**, 35, 724-734.
- [133] P. Lakshmipathi, A. V. Rama Rao „Efficient Conjugate Addition of Hydrogen Azide to Enoates“ *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 2551-2552.
- [134] D. J. Guerin, T. E. Horstmann, S. J. Miller „Amine-Catalyzed Addition of Azide Ion to γ,δ -Unsaturated Carbonyl Compounds“ *Org. Lett.* **1999**, 1, 1107-1109.
- [135] V. O. Rodionov, V. V. Fokin, M. G. Finn „Mechanism of the Ligand-Free Cu(I)-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition Reaction“ *Angew. Chem.* **2005**, 44, 2210-2215.
- [136] I. Langmuir „Surface chemistry“ *Chem. Rev.* **1933**, 13, 147-191.
- [137] G. Santhosh, S. Venkatachalam, K. N. Ninan, R. Sadhana, S. Alwan, V. Abarna, M. A. Joseph „Adsorption of ammonium dinitramide (ADN) from aqueous solutions. 1. Adsorption on powdered activated charcoal“ *J. Hazard. Mater.* **2003**, 98, 117-126.
- [138] V. Ferreira, I. Jarauta, L. Ortega, J. Cacho „Simple strategy for the optimization of solid-phase extraction procedures through the use of solid-liquid distribution coefficients. Application to the determination of aliphatic lactones in wine“ *J. Chromatogr., A* **2004**, 1025, 147-156.
- [139] S. Golshan-Shirazi, S. Ghodbane, G. Guiochon „Comparison between Experimental and Theoretical Band Profiles in Nonlinear Liquid Chromatography with a Pure Mobile Phase“ *Anal. Chem.* **1988**, 60, 2630-2634.
- [140] P. Jandera, D. Komers „Fitting competitive adsorption isotherms to the experimental distribution data in reversed-phase systems“ *J. Chromatogr., A* **1997**, 762, 3-13.
- [141] C. Y. Chang, W. T. Tsai C. H. Ing, C. F. Chang „Adsorption of polyethylene glycol (PEG) from aqueous solution onto hydrophobic zeolite“ *J. Colloid Interface Sci.* **2003**, 260, 273-279.
- [142] A.-C. Chang, C. C. Chao, A. E. Takemori, G. Gekker, S. Hu, P. K. Peterson, P. S. Portoghese „Arylacetamide-Derived Fluorescent Probes: Synthesis, Biological Evaluation, and Direct Fluorescent Labeling of K Opioid Receptors in Mouse Microglial Cells“ *J. Med. Chem.* **1996**, 39, 1729-1735.
- [143] K.-B. Lee, A. Al-Hakim, D. Loganathan, R. J. Linhardt „A new method for sequencing linear oligosaccharides on gels using charged, fluorescent conjugates“ *Carbohydr. Res.* **1991**, 214, 155-168.
- [144] A. Zilkha, U. Golik „Syntheses of Amide Derivatives of DL- δ -Carboxy-L-aminobutyric Acid“ *J. Org. Chem.* **1963**, 28, 2007-2009.
- [145] F. Markey „What is SPR anyway?“ *BIA J.* **1999**, 1, 14-17.
- [146] F. Markey, *Real-Time Analysis of Biomolecular Interactions: Applications of Biacore*, Springer-Verlag, Tokyo, **2000**.
- [147] L. R. Rich, D. G. Myszka „Advances in surface plasmon resonance biosensor analysis“ *Curr. Opin. Biotechnol.* **2000**, 11, 54-61.
- [148] P. Unruh, „Chemo-enzymatische Synthese neuartiger Sialokonjugate“, *Dissertation* **2007**, TU Darmstadt.

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Salvarsan (links) und die von Paul Ehrlich angenommene Struktur (rechts).....	1
Abb. 2: Vergleich von Parallelsynthese und Mix-and-Split-Verfahren.....	3
Abb. 3: Synthese eines Dipeptids mit Hilfe der Festphasensynthese.....	5
Abb. 4: Schematische Darstellung eines an die Festphase gebundenen Substrates (hier <i>N</i> -Acetylglucosamin).....	6
Abb. 5: Anwendungen für polymergebundene Reagenzien.....	8
Abb. 6: Schematische Darstellung der Anbindung eines Substrates (hier <i>N</i> -Acetylglucosamin) an RP-Kieselgel über einen hydrophoben Anker (hier Acridon).....	11
Abb. 7: Durchführung einer reversiblen Festphasensynthese (schematische Darstellung).....	11
Abb. 8: Acridon (1).....	15
Abb. 9: Cholesterol (2).....	16
Abb. 10: Die Gallensäuren Cholsäure (3), Desoxycholsäure (4) und Lithocholsäure (5).....	16
Abb. 11: Struktur und Untergliederung des 5-Cholesten-3 δ -ols (Cholesterol, 2).....	20
Abb. 12: Alternative Alkylierungsmittel.....	25
Abb. 13: gängige CH-azide Reagenzien für C-C-Verknüpfungsreaktionen.....	32
Abb. 14: ¹³ C-NMR des Epimerengemisches von (5 γ -Cholestan-3 γ 3- δ)-essigsäure-ethylester (schwarz: γ -Epimer, grün: δ -Epimer).....	35
Abb. 15: Cholsäuren: Cholsäure (3 , R ¹ =R ² =OH), Desoxycholsäure (4 , R ¹ =OH, R ² =H), Lithocholsäure (5 , R ¹ =R ² =H).....	36
Abb. 16: Dehydrocholsäure.....	37
Abb. 17: Vollständige Reduktion von Alkoholen/Ketonen.....	38
Abb. 18: Mögliche Nebenprodukte bei der Methylierung von Desoxycholsäuremethylester (23)...	40
Abb. 19: Hydrophober Anker von Rademann et al.....	45
Abb. 20: Vergleich von Cholesterol- und Desoxycholsäureanker.....	46
Abb. 21: <i>N</i> -(2-Butyl)-2-(5 γ -cholestan-3 δ -yl)-ethylamin (41).....	50
Abb. 22: 10-(4-Penten-1-yl)-acridin-9(10 <i>H</i>)-on.....	58
Abb. 23: AZT.....	64
Abb. 24: ¹³ C-NMR-Spektrum der Tandemreaktion: 2-Cyclohexen-1-on (71 , grün), 3-Azidocyclohexan-1-on (73 , blau), Phenylacetylen (rot).....	68
Abb. 25: ¹³ C-NMR-Spektrum der Tandemreaktion: 2-Cyclohexen-1-on (71 , grün), 3-Azidocyclohexan-1-on (73 , blau), 3-(4-Phenyl-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-yl)-cyclohexan-1-on (74 , rot).....	70
Abb. 26: Fluoresceinisothiocyanat (Isomer I) und 7-Amino-1,3-naphthalindisulfonsäure.....	73
Abb. 27: Verteilungsgleichgewicht mit Cosolvens Methanol.....	77
Abb. 28: Verteilungsgleichgewicht mit Cosolvens DMF.....	78
Abb. 29: Verteilungsgleichgewicht mit Cosolvens THF.....	79
Abb. 30: Die Acridon enthaltenden Analyten zur Bestimmung des Einflusses des Substrates.....	81

Abb. 31: Cholesterol- und Desoxycholsäureanker mit Lactose als Substrat.....	82
Abb. 32: Schematische Darstellung eines SPR-Detektors: Lichtquelle, Prisma (blau), Detektor (DAD, rot), Metallfilm (gelb), Resonanzwinkel zur Zeit t_1 und t_2	82
Abb. 33: Dosis-Wirkungs-Messungen mit dem Lactosid 61 (Dreifachbestimmung).....	83
Abb. 34: Bindungskurven: Gesamtmessung (oben), nach Injektion (unten); grün: Monosaccharide, blau: Disaccharide, rot: Trisaccharide.....	85
Abb. 35: Ergebnisse der Biacore-Messungen (grün: Monosaccharide, blau: Disaccharide, rot: Trisaccharide).....	86
Abb. 36: HPLC-Messungen mit einem Acetonitril/Wasser-Gradient (grün: Monosaccharide, blau: Disaccharide, rot: Trisaccharide, gelb: Cholesterol- und Desoxycholsäureanker)....	88
Abb. 37: HPLC-Messungen in THF/Wasser (grün: Monosaccharide, blau: Disaccharide, rot: Trisaccharide, gelb: Cholesterol- und Desoxycholsäureanker).....	89
Schema 1: Mögliche Syntheserouten zur Einführung eines Spacers über die Hydroxylfunktion....	21
Schema 2: Hydrierung von Cholesterol (2).....	22
Schema 3: Umsetzung von Cholestanol (6) mit Dibrombutan in THF.....	24
Schema 4: Nebenreaktion bei der Alkylierung in DMF.....	24
Schema 5: Alkylierung mit Dibrombutan in Toluol.....	25
Schema 6: Alkylierung von Cholestanol (6) mit 4-Brombuttersäureethylester und 4-Brombuttersäurenitril.....	26
Schema 7: Allylierung von Cholestanol (6).....	27
Schema 8: Denkbare Folgechemie des Allylethers (11).....	28
Schema 9: Alternative Route zur Synthese eines Cholesterolankers über C-C-Verknüpfungsreaktionen.....	29
Schema 10: Cholesteroloxidation nach Oppenauer.....	30
Schema 11: Oxidation von 5 γ -Cholestan-3 δ -ol (6) nach Oppenauer.....	30
Schema 12: Oxidation von 5 γ -Cholestan-3 δ -ol (6) mit KBrO ₃ und CAN.....	31
Schema 13: Knoevenagel Reaktionen.....	33
Schema 14: Knoevenagelreaktion an 5 γ -Cholestan-3-on (15) mit Malonsäuredinitril.....	33
Schema 15: Synthese von (5 γ -Cholestan-3-yliden)-essigsäure-ethylester (20) über eine Wittig-Horner-Reaktion.....	34
Schema 16: Hydrierung von (5 γ -Cholestan-3-yliden)-essigsäure-ethylester (20).....	34
Schema 17: Methylierung von Desoxycholsäure (4).....	40
Schema 18: Synthese und Methylierung des Tritylethers 28	41
Schema 19: Methylierung von Desoxycholsäure (4) mit Dimethylsulfat.....	42
Schema 20: Permethylierung von Cholsäure (3) und Lithocholsäure (5).....	42
Schema 21: Versuchte Kupplungsreaktion mit 9 <i>H</i> -Fluoren-2-isocyanat.....	43
Schema 22: Reaktion mit 1-Naphthylisocyanat.....	44

Schema 23: Herstellung von Ankeralkoholen.....	47
Schema 24: Einführung der Azidgruppe über eine Mitsunobu-Reaktion.....	48
Schema 25: Überführung der Alkohole in ihre Methansulfonsäureester.....	48
Schema 26: Synthese der Azide.....	49
Schema 27: Reduktion der Azide mit Lindlar-Kat. unter H ₂ -Atmosphäre.....	51
Schema 28: Synthese von 3 γ ,12 γ -Dimethoxy-5 δ -cholan-24-ylisocyanat (44).....	51
Schema 29: Synthese des Acridonankers (mit Amin-Linker).....	52
Schema 30: Alkylierung von (Z)-2-Buten-1,4-diol mit 10-(5-Brom-1-pentyl)-acridin-9(10H)-on (45).....	54
Schema 31: Helferich-Reaktion von Hepta-O-acetyl- γ -D-lactosylbromid (50) mit 10-[5-(4-Hydroxy-2-buten-1-yloxy)-1-pentyl]-acridin-9(10H)-on (49).....	55
Schema 32: Synthese von 4-(2-Propinyloxy)-(Z)-2-buten-1-ol (52).....	56
Schema 33: Helferich-Reaktion von Hepta-O-acetyl- γ -D-lactosylbromid (50) mit 4-(2-Propinyloxy)-(Z)-2-buten-1-ol (52).....	56
Schema 34: „Click“-Reaktion mit 1-Azido-2-(5 γ -cholestan-3 δ -yl)-ethan (40).....	57
Schema 35: Koordination von Lactose an die verschiedenen Ankermoleküle mittels „Click“-Reaktion.....	58
Schema 36: Alkylierung von Allylalkohol mit 10-(5-Brom-1-pentyl)-acridin-9(10H)-on (45).....	59
Schema 37: Synthese von 10-(N-Acryloyl-5-aminopentyl)-acridin-9(10H)-on (64).....	59
Schema 38: Versuchte Kreuzmetathese zwischen 10-(5-Allyloxy-1-pentyl)-acridin-9(10H)-on (63) und Allyl-hepta-O-acetyl- δ -D-lactosid (62).....	60
Schema 39: Kreuzmetathese zwischen 10-(4-Penten-1-yl)-acridin-9(10H)-on (48) und Allyl-hepta-O-acetyl- δ -D-lactosid (62).....	61
Schema 40: Kreuzmetathese zwischen Allyl-hepta-O-acetyl- δ -D-lactosid (62) und Acrylsäuremethylester (oben) bzw. 10-(N-Acryloyl-5-aminopentyl)-acridin-9(10H)-on (64) (unten).....	62
Schema 41: Beispiel für eine 1-Topf-Reaktion.....	64
Schema 42: Michael-Addition von Azid an Acrylsäurebenzylester (70).....	65
Schema 43: Michael-Addition von TMS-Azid an 2-Cyclohexen-1-on (71).....	66
Schema 44: Michael-Addition von Azid an 2-Cyclohexen-1-on (71) im Wässrigen.....	67
Schema 45: Cycloaddition zwischen 3-Azido-cyclohexan-1-on (73) und Phenylacetylen.....	67
Schema 46: Tandemreaktion: 74 wurde im Gemisch mit den Zwischenprodukt 73 und dem Edukt 71 erhalten.....	70
Schema 47: Reduktive Aminierung und Alkylierung von 7-Amino-1,3-naphthalindisulfonsäure.....	74
Schema 48: Synthese der Maleinsäureamide.....	75
Schema 49: Synthese des Cholesterolankers.....	91
Schema 50: Synthese des Desoxycholsäureankers.....	92
Schema 51: Synthese verschiedener Linkerfunktionalitäten.....	93

Schema 52: Hydrophobe Markierung von Sacchariden.....	94
Schema 53: Tandemreaktion.....	95

Lebenslauf

* 10.05.1974
in Offenbach

Persönliches

Ulrich Matthias Adler
Büchnerweg 17
64319 Pfungstadt

verheiratet

Schulbildung

1981 – 1985

Matthias-Claudius-Schule in Heusenstamm-Rembrücken

1985 – 1994

Adolf-Reichwein-Schule in Heusenstamm

1994

Abitur

Hochschulausbildung

1994 – 1999

Studium der Chemie an der Technischen Universität Darmstadt

1996

Vordiplom

Vertiefungen in Organischer und Physikalischer Chemie
Chemische Technologie

1999/2000

Diplomarbeit in Organischer Chemie an der Technischen Universität Darmstadt, Thema: „*Zur Synthese eines Steroid-Ankers für Festphasenreaktionen*“
Abschluss Dipl.-Ing. (TU)

2000 – 2007

Promotionsstudium am Clemens-Schöpf-Institut für Organische Chemie und Biochemie der TU Darmstadt, Thema: „*Steroid-Anker für organische Synthesen an fester Phase*“

Berufliche Tätigkeit

seit 2007

a-tune software AG, Professional Service

Pfungstadt, den 04.09.2007

Matthias Adler

Büchnerweg 17
64319 Pfungstadt

04.09.2007

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich meine Dissertation selbstständig und nur mit den angegebenen Hilfsmitteln angefertigt habe. Weiterhin erkläre ich, noch keinen Promotionsversuch unternommen zu haben.

Matthias Adler